

Einfluss der Pharmakotherapie auf die Kollagen- Crosslinkausscheidung bei rheumatoider Arthritis

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

**doctor medicinae
(Dr. med.)**

vorgelegt dem Rat der medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Lars Kummer

geboren am 25.04.1979 in Rudolstadt

2007

Gutachter

1. Prof. Dr. med. G. Hein, Universität Jena
2. Prof. Dr. med. B. Swoboda, Universität Erlangen
3. Prof. Dr. rer. nat. R. Bräuer, Universität Jena

Tag der öffentlichen Disputation: 06.05.2008

Abkürzungsverzeichnis

ARA	American Rheumatism Association
ATP	Adenosintriphosphat
AWMF	Arbeitsgesellschaft der Wissenschaftl. Medizin. Fachgesellschaften
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
CD	Cluster of Differentiation
CL	Crosslinks
COMP	Cartilago Oligometric Matrix Protein
COX	Cyclooxygenase
CrP	C-Polysaccharid reaktives Protein
Crea	Kreatinin im Urin (mmol/l)
DEXA	Dual Energy X-ray Absorbtometry
DGRh	Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie
DMARD	Disease modifying anti rheumatic drugs
DPYD	Desoxypyridinolin
DVO	Dachverband Osteologie
fDPYD	freies Desoxypyridinolin
fPYD	freies Pyridinolin
GM-CSF	Granulocyte Monocyte Colony-stimulating Factor
GK	Glukokortikoide
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSP	Heat Shock Proteins
ICAM	Intercellular Cell Adhesion Molecule
IL	Interleukin
INF	Interferon
MCSF	Macrophage Colony-stimulating Factor
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMP	Matrixmetalloproteinase
MW	Mittelwert
MTX	Methotrexat
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
nsNSAR	nichtselektive NSAR
OP	Osteoporose
OPG	Osteoprotegerin
PG	Prostaglandine
PYD	Pyridinolin
RA	rheumatoide Arthritis
RANKL	receptor activator nuclear factor- κ B ligand
RF	Rheumafaktor
SD	Standard deviation
SF	Synovialflüssigkeit
TGF	Transforming Growth Factor
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
TNF	Tumornekrosefaktor
uPA	urinary-type-plasminogen activator
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule

Inhaltsverzeichnis

1. ZUSAMMENFASSUNG	1
2. EINLEITUNG	4
2.1. EPIDEMIOLOGIE	4
2.2. ÄTIOLOGIE UND PATHOGENESE	5
2.3. DIAGNOSE DER RHEUMATOIDEN ARTHRITIS	8
2.4. KOLLAGEN UND CROSSLINKS	9
2.5. THERAPIE DER RHEUMATOIDEN ARTHRITIS	12
Nichtsteroidale Antirheumatika	13
Glukokortikoide	17
Basistherapeutika	20
Begleitosteoporose und Osteoporosetherapie	22
3. ZIELSTELLUNG	25
4. MATERIAL UND METHODEN	26
4.1. PATIENTEN	26
4.2. BESTIMMUNG DER KOLLAGEN-CROSSLINKS	28
4.3. STATISTISCHE AUSWERTUNG	31
5. ERGEBNISSE	32
5.1. VERGLEICH DER RA GESAMTGRUPPE ZU DEN KONTROLLKOLLEKTIVEN	32
5.2. PHARMAKOLOGISCHER EINFLUSS AUF DIE CROSSLINKAUSSCHIEDUNG	39
Nichtsteroidale Antirheumatika und Glukokortikoide	40
Osteoporose und Osteoporosemedikation	47
Basistherapeutika versus Methotrexat	54
6. DISKUSSION	57
7. SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK	67
8. LITERATURVERZEICHNIS	69
9. ANHANG	78
CURRICULUM VITAE	78
EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	79
DANKSAGUNG	80

1. ZUSAMMENFASSUNG

Die RA ist eine chronisch entzündliche Erkrankung, die vor allem die Gelenke betrifft. Ihr autoimmunologischer Charakter führt zur fortschreitenden Gelenkdestruktion, in deren Folge der Patient enorm physisch und psychisch beeinträchtigt ist. Pathophysiologisch scheint bei der RA die Entzündung sehr eng mit der Knorpel- und Knochenresorption verknüpft zu sein. Dennoch kann man diese nicht sicher mit einer antientzündlichen Therapie aufhalten und trotz klinischer Remission ist eine radiologische Progression möglich. Eine laborchemische Quantifizierung dieses Gelenkbefalls ermöglicht eine schnelle Diagnosestellung und supportive Therapieoptimierung. Großes Potential bieten hierfür freigesetzte Kollagenquervernetzungsmoleküle als Parameter des Knorpel- und Knochenabbaus. Diese, sogenannten Pyridinium-Crosslinks (CL) Pyridinolin (PYD v.a. aus Knorpel aber auch aus Knochen) und Desoxypyridinolin (DPYD v.a. aus Knochen), werden bei erhöhtem Knorpel- und Knochenkatabolismus vermehrt ins Blut freigesetzt und können durch Ausscheidung im Urin quantitativ gemessen werden. Vor allem bei der RA sind höhere Pyridinolincrosslinkausscheidungen zu verzeichnen, wodurch auch der Quotient zwischen PYD und DPYD deutlich höher ist. Neben zahlreiche Einflussfaktoren auf die Crosslinkspiegel im Urin (Tagesrhythmik, Hormonstatus, Kreatininwert, Geschlecht, Alter und Begleitosteoporose) können sich diese auch durch antirheumatische Therapeutika im Sinne eines Therapieerfolges, aber auch als Nebenwirkung verändern. Um weitere Erkenntnisse über die Auswirkungen der Antirheumatika auf den Kollagenumsatz und somit den Gelenkstatus einer RA zu erhalten, beschäftigten wir uns mit der Messung und Interpretation von Kollagen-Crosslinkspiegeln im Urin unter Berücksichtigung soziodemographischer Faktoren und der differentiellen medikamentösen Therapie. Aufgrund synergistischer Wirkungen, Verminderung von unerwünschten Begleiterscheinungen und dem Streben nach einer effektiven Therapie werden oft nichtsteroidale Antirheumatika, Glukokortikoide, Basistherapeutika und bei Bedarf noch Osteoporosemedikamente kombiniert. Aus diesem Grund setzten wir uns intensiv mit Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Medikamenten und einer Begleitosteoporose bei der Betrachtung der Kollagen-Crosslinkausscheidung im Urin auseinander. Dies ermöglichte uns, Rückschlüsse auf die Wirkungsweisen einzelner Medikamente und die Effektivität einer Behandlung im Hinblick auf die Kollagendestruktion zu ziehen.

An einem Patientengut von 228 Probanden mit RA stellten wir uns beginnend der Aufgabe, das Verhalten der Crosslinkausscheidung hinsichtlich Alter, Geschlecht und Korrelationen mit Entzündungsparametern zu prüfen. Außerdem wurden die PYD und

DPYD Ausscheidungen von RA Patienten einem bekannten gesunden Kontrollkollektiv und einer Osteoporosegruppe gegenübergestellt. Die Diagnose der rheumatoiden Arthritis erfolgte gemäß den ACR-Kriterien. Neben soziodemographischen wurden laborchemische Daten in diese Studie einbezogen. In unserer Untersuchung erfolgte die Messung der Kollagen-Crosslinks standardisiert im Morgenurin anhand von Doppelbestimmungen mittels HPLC. Durch Säurehydrolyse konnten wir zwischen freien CL und proteingebundenen CL differenzieren. Unter Beachtung soziodemographischer Einflussfaktoren wählten wir nach diesen Voruntersuchungen alle RA Patientinnen zwischen dem 50. und 79. Lebensjahr (N=140) aus und befassten uns mit den wesentlichen Fragestellungen:

Können insbesondere nichtselektive NSAR (nsNSAR) und Coxibe die Kollagen-Crosslinkausscheidung senken und somit den Knorpel schützen? Wie wirkt eine Glukokortikoidtherapie auf die PYD und DPYD Ausscheidung, antiinflammatorische Gelenkprotektion oder Osteoporose mit erhöhter CL Ausscheidung? Wie äußert sich die relativ häufige Begleitosteoporose und ihre spezifische Therapie mit Vitamin D+Kalzium und Bisphosphonaten im Gesamtbild der Kollagen-Crosslinks bei RA?

Durch weiterführende Varianzanalysen wollten wir mögliche Kovarianzen berücksichtigen, um den Summationseffekt und die Interaktionen verschiedener Einflussfaktoren auf die Crosslinks im Urin besser interpretieren zu können. Ergänzend wurden an einem kleinen, aber nach Altersgruppe, Geschlecht, NSAR und GK Einnahme vergleichbaren Patientengut gegenübergestellt: RA Patienten ohne Basistherapeutika (N=11) versus RA Patienten mit Methotrexat (N=11) Therapie.

Im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe und einer Osteoporosevergleichsgruppe fanden wir in unserem Patientenkollektiv mit RA die signifikant höchsten PYD Werte und den größten Quotienten. Probanden in der Osteoporosevergleichsgruppe hatten die signifikant höchsten DPYD Werte. Diese veränderten Kollagen-Crosslinkausscheidungen spiegeln den intensiven gelenkdestruierenden Prozess bei der RA und die Abnahme der Knochendichte bei Osteoporose gut wider. Unter den RA Patienten haben Frauen deutlich mehr Kollagen-Crosslinks im Urin als Männer. Signifikante Korrelationen konnten wir insbesondere für PYD und peptidfreies PYD mit dem Alter, der Erkrankungsdauer und den Entzündungsparametern (BSG und CRP) darstellen. Die Beobachtung der Kollagen-Crosslinks in verschiedenen Alterstufen zeigte bei Frauen einen deutlichen menopausalen Anstieg, gefolgt von einem Plateau zwischen dem 50. und 79. Lebensjahr. Schlussfolgernd können wir bekannte Ergebnisse bezüglich des Vergleichs zu den Kontrollgruppen valide

bestätigen. Ebenso finden wir unter allen RA Patienten bei den Alters- und Geschlechtsvergleichen sowie bei den Korrelationsanalysen Übereinstimmung zu anderen Studien. Aufbauend auf unsere Ergebnisse zeigen die Analysen nach Medikamentendifferenzierung deutlich geringere Kollagen-Crosslinkausscheidungen (PYD und Quotient PYD/DPYD) unter NSAR Therapie. Offenbar wird dieser Effekt, wenn begleitend keine Steroide substituiert werden und ist besonders unter der Gabe von Coxiben ausgeprägt. Dies deutet, neben der antiinflammatorischen Komponente auch auf eine, den Kollagenstoffwechsel modulierende Wirkung durch NSAR bei der RA hin und kann möglicherweise die Schadensentwicklung bremsen. Unterstützt wird diese Aussage durch die prozentuale Abnahme der proteingebundenen Pyridinolinfraktion unter NSAR. Der endgültige Beweis obliegt jedoch einer prospektiven Untersuchung mit genauer Randomisierung. Ob der Effekt auf den Kollagenabbau indirekt über die Entzündungshemmung oder über direkte Wirkprinzipien per COX2 Hemmung an den Chondrozyten stattfindet, bleibt Gegenstand zukünftiger Diskussionen. Unsere Ergebnisse heben den therapeutischen Stellenwert der nsNSAR und der Coxibe bei RA hervor. Unter GK ging der Trend zu höherer Kollagen-Crosslinkausscheidung bei gleichzeitig vermehrter Koinzidenz einer Osteoporose. Wobei es sich hierbei um ein schwerer betroffenes Patientengut handelt, welches einer aggressiveren Therapie bedarf. Eine Osteoporose bei RA Patientinnen ging mit deutlich höheren PYD und signifikant höheren DPYD und proteingebunden DPYD Werten einher. Vitamin D+Kalzium und Bisphosphonate führten nur bei RA mit Begleitosteoporose zu einer relativ potenten Gegenregulation mit signifikanter Verringerung der Kollagen-Crosslinkausscheidung und sind somit als bedeutungsvolle pharmakologische Einflussfaktoren auf die PYD und DPYD Ausscheidung zu bewerten. Unter Methotrexat als Beispiel für die Basistherapie fanden wir in der kleinen Patientenauswahl keinen bemerkenswerten Einfluss auf den Knorpel- und Knochenmetabolismus und können die postulierte MTX-induzierte Osteopathie nicht bestätigen.

Die Kollagen-Crosslinkausscheidung bei RA wird neben der entzündlichen Krankheitsaktivität wesentlich von soziodemographischen Faktoren und medikamentösen Einflüssen geprägt. Werden Kollagen-Crosslinks im Urin zur Evaluierung der aktuellen Knorpel- und Knochenresorption herangezogen, müssen wir besonders bei der Kombinationstherapie einer RA und einer Begleitosteoporose mit Wechselwirkungen bei der Kollagen-Crosslinkbewertung rechnen.

2. EINLEITUNG

Im antiken Griechenland beschrieb Hippokrates in seinem „Corpus Hippocraticum“ erstmals verschiedene Formen der Arthritis. Er definierte sie recht allgemein mit „Schmerzen, die dazu neigen, chronisch zu werden und zu Deformierungen führen.“. Dies entsprach dem wissenschaftlichen Kenntnisstand von etwa 400 v.Chr. Auch in den Anfängen der heutigen Zeitrechnung, durch Galen oder später in der Renaissance durch Baillou wurden keine weiteren Differenzierungen vorgenommen. Letzterer prägte den Begriff Rheumatismus (rheo = ich fließe) mit der Vorstellung, dass ein kalter Schleim vom Gehirn in die Extremitäten hinabfließt und Beschwerden hervorruft. Der Begriff Arthritis war immer noch mehrdeutig. Erst später begann man, deutlicher zwischen Gicht und Rheumatismus (akut und chronisch) zu unterscheiden, was v.a. durch Cullen im 18.Jh. betont wurde. Bis zur klaren Zweiteilung des „chronischen Gelenkrheumatismus“ in die entzündlichen progressiven Arthritiden und die degenerativen Arthrosen war es ein langer Weg. Diese Auftrennung wurde durch den Franzosen Charcot erstmals im 19.Jh. beschrieben und später in England als „rheumatoid arthritis“ bzw. „osteoarthritis“ bezeichnet. Basierend auf der Beschreibung des synovialen Pannus, weiteren Differenzierungen der Krankheitsbilder, der Entdeckung der Wassermannreaktion und der Rheumafaktoren, verschiedenen Theorien über Ursache, Immunologie und Pathophysiologie spricht man heute von zahlreichen unterschiedlichen Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Die rheumatoide Arthritis oder auch chronische Polyarthritis genannt, ist der Hauptvertreter der entzündlichen rheumatischen Erkrankungen. Laut Definition ist sie eine chronisch entzündliche Systemerkrankung, die v.a. die kleinen Gelenke der Finger betrifft aber auch durch unspezifische Allgemeinsymptome und extraartikuläre Organmanifestationen gekennzeichnet ist.

2.1. EPIDEMIOLOGIE

Allgemein beträgt die Prävalenzrate für Erwachsene, an einer RA zu erkranken, rund 1% (Gabriel et al. 1999). Nimmt man die Erfüllung der „American College of Rheumatology Criteria 1987“ als Voraussetzung, so erkranken in Deutschland jährlich von 100.000 Personen etwa 34 Frauen an einer RA. Frauen erkranken im Mittel dreimal häufiger als Männer (lt. DGRH). Die Inzidenz liegt weltweit bei etwa 30-300/100.000 Einwohnern. Sie ist bei der RA nicht nur geschlechtsabhängig, sondern ändert sich auch mit dem Lebensalter (Gabriel et al. 1999). Bei Frauen ist sie doppelt so hoch und steigt bis zum

45.Lj., hat dann ein Plateau bis zum 75./ 80. Lj., um anschließend wieder abzufallen. Bei den Männern ist die Inzidenz bis zum 45.Lj. etwa gleich niedrig und zeigt erst danach einen Anstieg mit dem Alter (Symmons et al. 1994). Die Erstmanifestation ist also in jedem Alter möglich, bevorzugt sind jedoch das 4.-5. Lebensjahrzehnt (Iking-Konert et al. 2007). Die durchschnittliche Lebenserwartung bei Erkrankung sinkt für Männer um etwa 7 Jahre und für Frauen um etwa 3 Jahre. Nach 10 Jahren Erkrankungsdauer sind weniger als 50% der Betroffenen noch berufsfähig (Brooks 1993).

2.2. ÄTIOLOGIE UND PATHOGENESE

Nachweise, einen spezifischen Umweltfaktor als ätiologisches Agens für die RA zu ermitteln, blieben bis dato aus. So versuchte man oft, infektiöse Erreger ursächlich verantwortlich zu machen. Man fand, dass Mykoplasmen oder Chlamydien eine direkt T-Zell abhängige Zytokinproduktion in Makrophagen induzieren und somit eine Arthritis triggern können (Cole und Griffiths 1993). Auch Infektionen durch verschiedene Viren (Parvo B19-Virus, Lentiviren, Retroviren, Rubellaviren) brachte man in Zusammenhang mit der RA. Zum Beispiel aktivieren Epstein-Barr-Viren B-Zellen zur Bildung von Rheumafaktoren und zur Stimulierung von T-Zellen. Die Immunreaktion kann durch molekulares Mimikry mit dem Gelenkknorpel auch ohne Erregerpersistenz weiter aktiv sein (Depper und Zvaifler 1981).

Heute ist man sich weitgehend einig, dass Infektionen durch Veränderung der T-Zell Funktion, Einbau viralen Genoms oder durch die Ausbildung von lokalen Autoimmunreaktionen infolge eines molekularen Mimikry eine Arthritis triggern können. Prädisponierend können genetische Faktoren sein, wie z.B. die Assoziation zu bestimmten HLA-Typen mit familiären Häufungen. Was letztendlich das primum movens ist, bleibt weiterhin unklar und unterstreicht auch den heutigen Standpunkt einer multifaktoriellen Genese der RA.

Wie kommt es nun zur Immunantwort?

Nach einer initialen Vaskulitis wird die synoviale Membran des Gelenks von B- und T-Lymphozyten besiedelt, welche durch Bindung an Adhäsionsmoleküle (ICAM, VCAM) ins Gewebe migrieren (Geiler 1996). Makrophagen und dendritische Zellen der Synovia können im perikapillären Raum effizient T-Lymphozyten stimulieren, vermutlich durch Darbietung eines pathogenen Antigen (Poulter und Janossy 1985). Aufgrund ihrer Vielfältigkeit können auch verschiedene Moleküle, wie z.B. Typ II Kollagen,

Proteoglykane, HSP und virales Antigen über MHC II präsentiert werden. In der Histopathologie erinnert vieles an eine klassische Typ IV Immunreaktion vom verzögerten Typ, d.h. Makrophagen und dendritische Zellen präsentieren ein unbekanntes Antigen und stimulieren CD4⁺T-Zellen. Trotz der phänotypischen Eigenschaft der Aktivierung scheint die T-Zell Funktion im Vergleich zu peripheren Blutlymphozyten in der Synovialflüssigkeit herabgesetzt. Zum Beispiel ist die Proliferation synovialer T-Zellen aufgrund verschiedener Antigene niedriger als bei Blutlymphozyten. Auch die Zytokinproduktion von synovialen T-Zellen ist in vitro recht niedrig und zeigt vermindertes INF γ und IL2 (Nouri und Panayi 1987).

Die für lange Zeit als entscheidend geglaubte Komponente der CD4⁺Helferzellen bei der frühen RA Antwort scheint überholt. Die T-Zell Zytokine (IL2, 3, 4, 6, 13, TNF α + β , INF γ) sind bei RA vermindert, aber die Zytokine von Makrophagen und synovialen Fibroblasten (IL1, IL1Ra, IL6, 10, 15, TNF α , MCSF, GM-CSF, Chemokine) sind erhöht. Der relative Mangel an T-Zell Zytokinen trägt womöglich auch zur Synovitisexazerbation bei, da die immunsupprimierende Wirkung von IL4 und IL10 als Hemmung der T-Zelldifferenzierung wegfällt.

Zusammenfassend sorgt ein unbekannter externaler Stimulus für eine zytokin- und zellreiche Umgebung im Gelenk. Es kommt zur Infiltration von Entzündungszellen, Angiogenese, Hyperplasie der Synovialzellen mit chronischer Synovitis. Synoviale Fibroblasten bilden gewebsauflösende Matrixmetalloproteinasen (MMP1, 2, 3, 9 und TIMP1, 2). Makrophagen bilden MMP1+9, TIMP 1+2, uPA und Kathepsine. T-Lymphozyten sezernieren MMP9 für die Infiltration in die Synovialis. Mastzellen degranulieren, stimuliert durch Immunkomplexe, Chymase und Tryptase. Neutrophile Granulozyten (polymorphkernige Leukozyten) erzeugen MMP8+9, neutrophile Elastase und Kathepsin G.

Der Prozess erlangt im Gelenkspalt Autonomie und persistiert auch bei verminderter T-Zell Antwort. IL1 und TNF α spielen eine zentrale Rolle. Eine klinische Besserung korreliert mit Senkung ihres synovialen Spiegels. Beide werden durch Makrophagen gebildet und stimulieren die Proliferation transformierter synovialer Fibroblasten und Sekretion von IL6, MMP, Chemokinen und GM-CSF. Letztere führen wiederum durch positiven Feedbackmechanismus zur Aktivierung der Makrophagen (autokrin und parakrin) und perpetuieren den Prozess der Synovitis. Im Gespräch ist derzeit eine TH₁ Subgruppe mit IL17 Produktion. Es wirkt synergistisch zu IL1 und TNF α und kann durch diese, im Sinne eines positiven Feedbacks gebildet werden. Weiterhin soll IL17 RANKL

(receptor activator of nuclear factor- κ binding ligand) und IL6 erhöhen und somit indirekt (über Mediatoren), aber auch direkt zur Gelenkdestruktion beitragen (Lundy et al. 2007). Das Fehlen sogenannter TREG-Zellen (T-Regulator Zellen) wird ebenfalls in Verbindung mit der RA gebracht. Sie wirken anergisch und vermögen die Immunantwort normaler T-Zellen zu kontrollieren. Eine Abwesenheit kann eine Chronifizierung der RA begünstigen (Kramer und Gaffen 2007, Toh und Miossec 2007, Lundy et al. 2007, Sarkar und Fox 2007).

Die Pathogenese der RA beinhaltet im Wesentlichen ein komplexes Netzwerk von Zytokinen, gebildet von Makrophagen und Fibroblasten in Kombination mit defekter T-Zellimmunantwort.

In B-Zellen werden Rheumafaktoren gegen Immunglobuline und Antikörper gegen Typ II-Kollagen mit zytotoxischen Immunkomplexen gebildet. Dies deutet auf die Autoaggression dieser Krankheit. Die zelluläre Immunantwort führt zur Bildung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren und gipfelt später in der Formation eines aggressiven Pannus. Das Milieu im Gelenk besteht nun aus zahlreichen Proteinasen, die den Abbau von Gewebe katalysieren. Dem Gegenüber stehen die endogenen Proteinaseinhibitoren. 10% aller Plasmaproteine sind solche Proteinaseinhibitoren. Das Ausmaß des Katabolismus wird durch eine Störung der Zytokinbalance mit einem Ungleichgewicht zwischen Proteasen und Proteinaseinhibitoren in der Gelenkflüssigkeit bestimmt. Bei Dominanz der proteolytischen Enzyme kommt es zur Affektion der Oberfläche des Gelenkknorpels. An der Gelenkknorpelgrenzzone bildet sich als Reaktion auf die Gelenkzerstörung ein Pannus. Er beschreibt eine Gewebeproliferation mit oder ohne Vaskularisation, wahrscheinlich als Ausdruck der aggressiven Destruktion. Die Ausbreitung des Pannus kann mit dem invasiven Wachstum von Tumorzellen verglichen werden. Dies bekräftigen Arbeiten, die im betroffenen Synovialgewebe eine erhöhte Expression von Onkoproteinen und eine geringere Apoptosefrequenz nachweisen konnten (Pap et al. 2000). Der Pannus wächst resorptiv in den mineralisierten und hyalinen Knorpel sowie in den subchondralen Knochen (Bromley und Woolley 1984). Chondroklasten, transformierte fibroblastenartige Synoviozyten und Osteoklasten tragen besonders zur Erosion bei. Letztere sezernieren MMP9 (gegen Kollagen I und gelatinolytisch v.a. bei niedrigem pH), Kathepsin K (kollagenolytische Cysteinproteinasen) und sorgen an dem subosteoklastischen Bürstensaum mit Hilfe eines Chloridkanals und einer ATP abhängigen Protonenpumpe für einen sauren pH und somit zur Andauung von Hydroxylapatit (Kornak und Mundlos 2003). Dieser Prozess scheint an der Pannusgrenze durch Bradykinin über endogene

Prostaglandine getriggert und kann durch NSAR und Steroide gehemmt werden (Lerner et al. 1987). Die histopathologischen Eigenschaften des Knorpelpannus scheinen jedoch an den Gelenken verschieden zu sein. So ist der invasive erosive Pannus v.a. repräsentativ für die kleinen Gelenke, während z.B. beim Knie eine Schicht Fibroblasten den Pannus vom Knorpel abzugrenzen scheint (Allard et al. 1991).

Neben der enzymatischen Destruktion des Knorpels (getriggert durch IL1 und TNF α) kommt es zusätzlich zu einer mechanischen Alteration der angegriffenen Gelenkfläche. Zeitig in der Synovitis wird durch Zytokine, wie IL1, Proteoglykan abgebaut und der Knorpel wird mechanisch instabil und verletzungsanfällig. Der Verlust der funktionellen Integrität wirkt synergistisch zur Knorpelauflösung (Harris et al. 1972).

Die Pathogenese der RA und ihre genauen pathophysiologischen Zusammenhänge sind in ihrem Detail sehr umstritten und konnten noch nicht lückenlos entschlüsselt werden. Viele der genannten Vorgänge sind spekulativ geprägt, vielleicht auch individuell verschieden und bleiben Gegenstand aktueller Forschungen.

Die RA ist eigentlich eine Gelenkerkrankung, jedoch ihr systemischer Charakter erlaubt auch extraartikuläre Manifestationen. Vor allem bei Rheumafaktor-positiven Patienten mit Immunkomplexablagerungen und Komplementaktivierung scheinen andere Organe betroffen zu sein. Eine regelmäßige Mitbeteiligung dieser sogenannten malignen RA findet sich in Lunge, Herz, Augen, Niere, Nerven- und Gefäßsystem. Eine schwere extraartikuläre RA wird oft von einer Komorbidität, z.B. durch kardiovaskuläre Erkrankungen und Infektionen begleitet und ist mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (Turesson und Jacobsson 2004). Ein begleitender Knochenverlust findet nicht nur in den arthritischgeschädigten Gelenken der Extremitäten statt, sondern generalisiert. Zum Beispiel findet man dies in den lumbalen Wirbelkörpern, getriggert durch Immobilität, chronische allgemeine Entzündung und eventuell Steroidtherapie der Patienten (Masaki et al. 1998).

2.3. DIAGNOSE DER RHEUMATOIDEN ARTHRITIS

Allgemein anerkannt beruht die Diagnose der RA auf den Kriterien der American Rheumatism Association (ARA):

1. Morgensteifigkeit größer 1h Dauer
2. Arthritis mit Weichteilschwellung oder Erguss an 3 oder mehr Gelenken gleichzeitig
3. Arthritis der Handwurzelgelenke und der proximalen Phalangealgelenke
4. Symmetrische Arthritis
5. Rheumaknoten oder andere extraartikuläre Manifestationen

6. Rheumafaktoren im Blut

7. radiologische Veränderungen

Mindestens vier der sieben Kriterien müssen erfüllt sein. Kriterium eins bis vier müssen mindestens sechs Wochen bestehen. Die klinischen Symptome sind charakteristische Merkmale. Kompletierend sind zur differentialdiagnostischen Abgrenzung gegenüber anderen Gelenkerkrankungen in der Regel Laboruntersuchungen, Gelenkpunktionen und möglicherweise Biopsien (Sangha 2000). Als diagnostischer Marker hat ein Antikörper gegen cyclische citrullinierte Proteine (Anti-CCP-AK) seit einigen Jahren an Bedeutung gewonnen. Er erlaubt sehr zuverlässige Aussagen im Bezug auf Sensitivität und Spezifität sowie ggf. das Vorhersagen einer beginnenden RA (Berglin et al. 2004, Bas et al. 2003).

2.4. KOLLAGEN UND CROSSLINKS

Die Hauptstrukturkomponenten im Bindegewebe unseres Körpers sind Kollagene. Man unterscheidet fibrilläres Kollagen, das bestimmend ist für die Stabilität und die strukturelle Integrität von Organen, und nichtfibrilläres Kollagen, Bestandteil der Basalmembranen. Weitere Makromoleküle im Bindegewebe sind Elastine, Proteoglykane und Strukturglykoproteine.

Die mechanische Stabilität und Zugfestigkeit des kollagenen Netzwerkes basiert auf inter- und intramolekularen elektrostatischen und hydrophoben Wechselwirkungen sowie, als besondere Modifikation im Knorpel und Knochen, spezifischen kovalenten Brückenbindungen zwischen Kollagenfibrillen: den Kollagen-Crosslinks.

Je nach Lokalisation im Körper sind der Gehalt, die räumliche Anordnung und der Durchmesser des Kollagens verschieden. Die Basis eines jeden Kollagenmoleküls bietet die helikale Domäne mit den endständigen nichtspiralisierten Telopeptiden. Darüber hinaus ist derzeit eine Vielzahl von Kollagentypen bekannt, die sich in Konformation und posttranslationaler Modifizierung der Kollagenmonomere unterscheiden. Fibrilläre Kollagene haben die typische rechtsgängige Trippelhelixstruktur (Superhelix) mit drei in sich gewundenen Kollagenhelices. Die Ursache dieser Struktur ist die repetitive Aminosäuresequenz, welche die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Glycin und der Ketogruppe anderer Aminosäuren (z.B. Prolin) ermöglicht.

Während der intrazellulären Kollagensynthese ist besonders die posttranslationale Modifizierung mit der Vitamin C abhängigen Hydroxylierung von Prolin und Lysin für die Ausbildung von intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen und somit zusätzlicher Stabilität von entscheidender Bedeutung. Noch vor der Ausschleusung aus der Zelle

kommt es aufgrund von hydrophilen und hydrophoben Wechselwirkungen, sowie intra- und intermolekularen Disulfidbrücken innerhalb der repetitiven Struktur des Kollagenpräkursors zur Ausbildung einer 3-Ketten-Spirale. Diese verliert mit dem Austritt aus der Zelle die endständigen Propeptide. Anschließend kommt es während der extrazellulären Reifung des Kollagens nach oxidativer Desaminierung der Lysyl- und Hydroxylysylreste durch die Lysyloxidase an den nicht spiralisierten C und N terminalen Telozeptiden zur Ausbildung von Schiff-Basen mit Aminogruppen anderer Lysyl- und Hydroxylysylreste von einer benachbarten Tripelhelix und nach chemischer Umlagerung letztendlich zu kovalenten Bindungen. Drei Kollagenmoleküle aggregieren somit intrazellulär spiralförmig zum Kollagenmonomer, das anschließend extrazellulär durch kovalente Bindungen mit anderen Tripelhelices zur Kollagenfibrille verknüpft wird. Hauptvertreter dieser Quervernetzungen sind Lysylpyridinolin und Hydroxylysylpyridinolin. Beide werden als Kollagen-Crosslinks zusammengefasst. Ersteres wird auch Desoxypyridinolin (DPYD) genannt, bestehend aus zwei Hydroxylysylresten plus einen Lysylrest und ist relativ spezifisch für Knochen und Dentin. Letzteres, kurz das Pyridinolin (PYD), kommt im Gelenkknorpel (Kollagen II), Knochen, Synovia, Sehnen und Aorta (Kollagen I) vor und basiert auf drei Hydroxylysylresten. Die höchste Anzahl an Hydroxylresten und somit auch an Pyridinolin weist der Knorpel und Knochen auf.

Durch Wasserstoffbrückenbindung und durch die quervernetzte Konformation stabilisiert sich das Kollagen und erhöht seinen Schmelzpunkt auf 65°C. Im Gelenkknorpel tragen die crosslinkvernetzten Kollagene auch indirekt zur Stabilität und Belastbarkeit des Knorpels bei, indem sie Aggrekanmoleküle festhalten, welche viele anionische Chondroitinsulfat- und Keratansulfatseitenketten mit hohem Wasserbindungsvermögen tragen (Manicourt et al. 2000). Quantitativ ist das Pyridinolin dem Desoxypyridinolin in nahezu allen Geweben um ein vielfaches überlegen. Bei der rheumatoiden Arthritis kommt ein überwiegender Teil der im Urin ausgeschiedenen Pyridinoline aus dem Gelenkknorpel und nicht aus dem Knochen, der eigentlichen physiologischen Hauptquelle der Crosslinks. Der Quotient PYD/DPYD ist in der Synovia von RA Patienten deutlich höher wie in anderen Geweben und korreliert eng mit TNF und IL6 aus der Synovia (Manicourt et al. 2000) und dem Quotienten PYD/DPYD im Urin sowie mit systemischen Entzündungsmarkern (Kaufmann et al. 2003).

Da erst die Verknüpfung reifer Kollagenfibrillen zur Ausbildung von Crosslinks führt, sind diese keine Intermediärprodukte der Kollagenprozessierung, sondern Endprodukte,

die erst wieder bei der Kollagenolyse frei werden. Diese Eigenschaft erlaubt Kollagen-Crosslinks als sensitiven Marker für die Knorpel- und Knochenresorption zu verwenden.

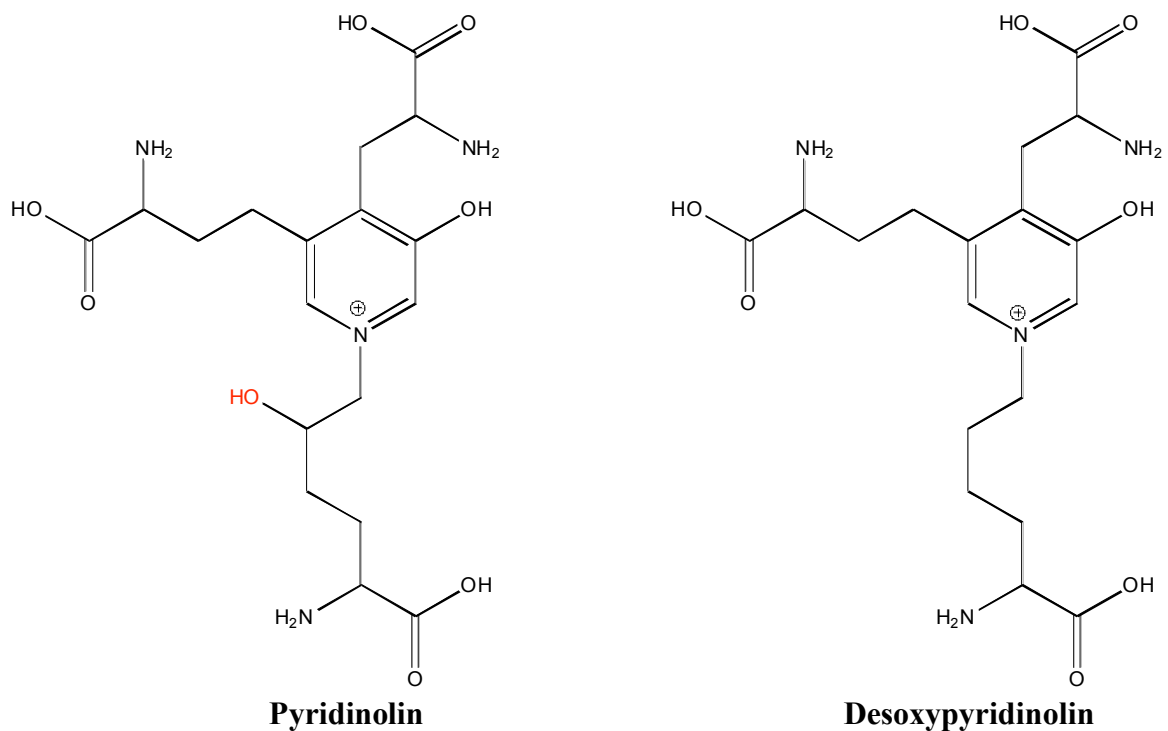
Im Rahmen des chondroklastischen Knorpel- und osteoklastischen Knochenabbaus werden im sauren Milieu durch Proteasen (Kollagenasen, Kathepsine, Matrixmetalloproteinasen) Kollagene in Untereinheiten zerlegt. Dabei entstehen Telopeptide mit Pyridinium-Crosslinks. Der Großteil der primär durch Osteoklasten freigesetzten Crosslinks ist also noch an Kollagenpeptidreste gebunden und gelangt so in die Blutbahn. Wahrscheinlich erst durch den Metabolismus in der Niere entstehen die freien Abkömmlinge fPYD und fDPYD (Colwell und Eastell 1996). Dadurch scheint die Tagesrhythmik der freien Crosslinks nahezu aufgehoben und die aktuelle Osteoklastenaktivität eher durch die peptidgebundenen Crosslinks wiedergegeben zu werden (Rubinacci et al. 1999).

Crosslinks sind stabil in Säure, können aber im kochenden Wasser und unter UV Strahlung zersetzt werden. Die fluoreszierende Eigenschaft mit einem Extinktionsmaximum zwischen 295 und 325 nm ist wesentlich für die Messung mittels hochauflösender Flüssigkeitschromatographie (HPLC). Die Crosslinks werden im Urin ausgeschieden und nicht durch Diät, körperliche Aktivität und Nierenfunktion signifikant beeinflusst (Seibel et al. 1989, McLaren et al. 1993). Die Einwirkung von Geschlecht und Alter variiert je nach Studienaufbau. Allgemein kann man davon ausgehen, dass infolge abnehmender Lysylhydroxylierung mit dem Alter sich besonders der Quotient PYD/DPYD verringert (Beardsworth et al. 1990). Ausgeprägt ist ein signifikanter Anstieg der Crosslinks (besonders DPYD) mit der Menopause (Srivastava et al. 2003). Erklärt wird dies mit einer erhöhten Knochenresorption (Delmas et al. 1993). Postpubertäre Männer und prämenopausale Frauen haben die niedrigsten Crosslinklevel im Urin (Takahashi et al. 1999). Die Urinausscheidung zeigt einen signifikanten zirkadianen Rhythmus mit höheren Werten in den frühen Morgenstunden und einem Tiefpunkt am späten Nachmittag (Schlemmer et al. 1992).

Die höchsten Werte in der gesunden Normalbevölkerung findet man bei postmenopausalen Frauen. Erkrankungen wie M. Paget, primärer Hyperparathyreoidismus, Tumore, Osteomalazie, Osteoporose, renaler Osteodystrophie und vor allem die rheumatoide Arthritis führen ebenso zu erhöhten Ausscheidungswerten. Leichtes körperliches Training erhöht die Knochendichte und vermindert die Ausscheidung der Crosslinks (William Fraser 1998).

Bei der rheumatoiden Arthritis korreliert das DPYD mit anderen Knochenumbau markern aber nicht oder nur schwach mit den paraklinischen Entzündungswerten (BSG und CrP).

Die Urinausscheidung von PYD korreliert dagegen in vielen Studien recht konsistent mit der rheumatischen Krankheitsaktivität (Garnero et al. 1994, Muller et al. 2003, Gough et al. 1994, Kameyama et al. 2000). Statistisch signifikante Zusammenhänge für PYD und den Quotienten PYD/DPYD konnten bei RA zwischen Synovia, Serum und Urin gefunden werden. Diese Korrelationen erlauben die Interpretation des Gelenkknorpelabbaues bei RA durch Messung der Kollagen-Crosslinks im Urin (Jensen et al. 2001, Sinigaglia et al. 1995, Kaufmann et al. 2003).



2.5. THERAPIE DER RHEUMATOIDEN ARTHRITIS

Die anfänglichen Heilverfahren mit Aspirin, Goldsalzen und der chirurgischen Gelenksanierung sind heute durch eine multidisziplinäre Therapiestrategie ersetzt. Die moderne therapeutische Bandbreite umfasst die medikamentöse Therapie, die Krankengymnastik, die Ergotherapie, die physikalische Therapie, die chirurgische Therapie, psychologische Maßnahmen und spezielle Ernährungsempfehlungen. Einen wesentlichen Wandel erlebte die Pharmakotherapie. Neben den nichtsteroidalen Antirheumatika und den Glukokortikoiden stehen heute sehr potente, den Krankheitsverlauf modulierende Medikamente zur Verfügung, sogenannte DMARDs (disease modifying antirheumatic drugs). Zu diesen Basistherapeutika zählen Methotrexat, Sulfasalazin, Azathioprin, Leflunomid, Chloroquin und Cyclosporin. Der Wirkungseintritt

kann Monate dauern und geht oft mit vielen Nebenwirkungen einher. Weiterhin können Patienten von speziellen, jedoch kostspieligen Immunmodulatoren (Biologicals) profitieren. Das Ansprechen auf jedes dieser Medikamente ist interindividuell sehr verschieden und der Einsatz sollte für den Einzelnen speziell abgestimmt sein. Dennoch ist die therapeutische Errungenschaft der letzten Jahre ein evidenzbasierter frühzeitiger Einsatz von DMARD gerade am Beginn einer rheumatoiden Arthritis. Überhaupt scheint eine frühe Intervention enormen Einfluss auf den Krankheitsprozess zu haben, da sich vermutlich ausschlaggebende pathologische Prozesse schon subklinisch abspielen, bevor das Gelenk auffällig wird (hit hard and early-Strategie; BeSt-Studie, (Goekoop-Ruiterman et al. 2005). Die gleichzeitige Gabe von NSAR, Glukokortikoiden, Biologika oder einem zweiten Basismedikament stellen dabei sinnvolle Kombinationen dar. Während der Einsatz von Glukokortikoiden durch viele Autoren sehr kontrovers diskutiert wird, haben NSAR weiterhin einen berechtigten Platz im Therapiekonzept der RA. Ihre antientzündlichen und schmerzlindernden Wirkungen tragen wesentlich zur Symptomverbesserung bei, stehen jedoch dem Risiko von häufig auftretenden Nebenwirkungen gegenüber.

Nichtsteroidale Antirheumatika

Zu den nichtsteroidalen Antirheumatika zählen z.B. Ibuprofen, Diclofenac, Indomethazin, Piroxicam, Lornoxicam, Aceclofenac, Azemetazin, Parecoxib, Celecoxib, Etoricoxib, Rofecoxib und Valdecoxib. Die beiden Letzteren sind seit September 2004 bzw. April 2005 offiziell in Deutschland vom Markt zurückgezogen. Seit 2007 ist Lumiracoxib neu für die Behandlung zugelassen.

Die allen NSAR gemeinsamen Eigenschaften umfassen analgetische, antipyretische und antiinflammatorische Wirkprinzipien. Bei Schmerz und Entzündungsreaktionen, wie bei der RA typisch, wird Arachidonsäure aus der Zellmembran freigesetzt. Cyclooxygenasen (COX) katalysieren die weitere Umwandlung zu Prostaglandin H_2 (PGH_2) in zwei sequentiell nacheinandergeschalteten enzymatischen Reaktionen. Nach der vorbereitenden Cyclooxygenierung der Arachidonsäure erfolgt durch eine Peroxidaseaktivität der COX die Umwandlung zu PGH_2 , das wiederum spontan oder durch Synthetasen zu den verschiedenen anderen Lipidmediatoren (Prostaglandin E_2 , I_2 , D_2 , Thromboxan A_2) synthetisiert werden kann. Die periphere und zentrale (im Bereich des Hinterhorns des Rückenmarks) Hemmung der Prostanoidsynthese durch Blockade des aktiven Zentrums der Cyclooxygenase wird als Wirkprinzip der Entzündungshemmung durch NSAR allgemein anerkannt. Seit 1990 ist bekannt, dass zwei verschiedene Isoformen der

Cyclooxygenase existieren, die beide die Prostaglandinbildung katalysieren. Eine, die Cyclooxygenase 1, kommt konstitutiv ubiquitär im Organismus vor und reguliert die physiologische Magenprotektion, Bronchodilatation, Nierendurchblutung und Thrombozytenaggregation. Die Cyclooxygenase 2 dagegen wird vor allem bei der Entzündungsreaktion durch bakterielle Endotoxine, Zytokine, Wachstumsfaktoren und Tumormediatoren um ein vielfaches überexprimiert (Cha et al. 2004). Eine Überschneidung der Funktionen ist jedoch auch physiologisch in geringem Maß möglich (Crofford et al. 2000). Die zwei Unterformen der COX haben einen verschiedenen Genlocus und bei einer etwa 60%igen Aminosäuresequenzhomologie Differenzen in der Promotorregion. Dies erlaubt zum einen die unterschiedliche Substratspezifität, die pharmakologisch selektiv genutzt wird, und zum anderen eine Steigerung der Expression auf unterschiedliche Stimuli (Park et al. 2006). Während nichtselektive NSAR (nsNSAR), wie Diclofenac, Ibuprofen, Indomethazin und Piroxicam beide Cyclooxygenasen hemmen, ist eine selektive Hemmung der für die Entzündung entscheidenden COX2 durch die sogenannten Coxibe möglich. Die verschiedenen Coxibe haben alle funktionell diese gleiche Eigenschaft, bilden aber chemisch keine einheitliche Gruppe.

Bei der chronischen Polyarthritiden zeigen die Synovialzellen als Ausdruck gesteigerter Entzündung eine erhöhte COX2-Expression und PGE₂ Level (Mello et al. 2000, Sugiyama et al. 1996). PGE₂ ist ähnlich dem PGI₂ ein Produkt beider mikrosomalen Cyclooxygenasen und wird bei der RA von synovialen Fibroblasten, Chondrozyten und Makrophagen, jedoch nicht von Lymphozyten gebildet (Westman et al. 2004). Induktoren für die Expression der PGE₂ Synthetase bzw. der COX2 sind vor allem IL1 und TNF α . Die Funktion kann durch nsNSAR und Coxibe reduziert werden (Kojima et al. 2005).

Für Coxibe pathophysiologisch entscheidend ist die spezifische Synthesehemmung des PGE₂ und PGI₂ bei Entzündung während gleichzeitig in den Thrombozyten die Bildung des Thromboxans (syn. TXA₂) aus der Arachidonsäure unbeeinflusst bleibt. PGI₂ wirkt vasodilatierend und vermindert die Thrombozytenaggregation. TXA₂ wirkt funktionell antagonistisch. Die selektive Hemmung der PGE₂ und PGI₂ Synthese durch Coxibe stört das Gleichgewicht zugunsten des TXA₂ und wirkt somit nach mechanistischen Standpunkt prothrombotisch. Nichtselektive NSAR hemmen beide Isoenzyme und scheinen das Gleichgewicht nicht zu stören. Eine Erhöhung des kardiovaskulären Risikos durch Coxibe konnten zunächst in der VIGOR-, APROVe- und APC-Studie gezeigt werden (Bombardier et al. 2000). Während eine Metaanalyse in der aktuellen MEDAL-Studie keine signifikanten kardialen Unterschiede zeigte und im Bezug auf die unerwünschten

gastrointestinalen Effekte ähnlich wie die Target-Studie für Coxibe signifikante Vorteile sah (Cannon et al. 2006, Laine et al. 2007, Topol und Falk 2004). Die prospektiv randomisierte ADAPT-Studie berichtet ebenso über kein signifikantes Risiko von kardiovaskulären Ereignissen unter Celecoxib, verweist jedoch auf einen Anstieg unter dem nichtselektiven Naproxen (ADAPT Research Group 2006). Große Metanalysen konnten keinen Anstieg des kardiovaskulären Risikos unter Celecoxib im Vergleich zu Placebo darstellen und auch gegenüber den konventionellen NSAR eine vergleichbare Rate kardiovaskulärer Ereignisse nachweisen (White et al. 2007).

Allgemein wird heute bei den gastrointestinalen Nebenwirkungen von einem Klasseneffekt der selektiven COX2-Hemmer ausgegangen, deren Ausprägung vom Grad der Selektivität, der Dosis und der Behandlungsdauer abhängt. Infolge der spezifischen COX2-Hemmung bleibt die protektive Prostaglandinwirkung auf die Magenmukosa bestehen. Ein geringeres Risiko der Coxibe an schweren gastrointestinalen Nebenwirkungen wurde oft beschrieben (Emery et al. 1999, Simon et al. 1999) und ähnelt vermutlich dem Risiko eines nichtselektiven NSAR plus Protonenpumpenhemmer (Rahme und Nedjar 2007). Das kardiovaskuläre Risiko hingegen geht vermutlich auf substratspezifische Unterschiede in beiden Gruppen zurück und kann je nach Substanz bei nsNSAR und Coxiben ansteigen (Hudson et al. 2007, Singh G 2005). Umstrittene Arbeiten über Gefahr und Nutzen der selektiven COX2-Hemmer lassen diese NSAR weiterhin in einer heißen Diskussion stehen. Wegen der Bedeutung und Brisanz dieses Themas legten wir großen Wert auf die Beurteilung der NSAR Wirkung auf die Crosslinkausscheidung im Urin, um deren Einfluss auf die Knorpel- und Knochendegradation bei RA präziser formulieren zu können.

Unerwünschte Begleiterscheinungen der NSAR sind v.a. Erosionen und Ulzerationen der Magen- und Darmschleimhaut, Dyspepsie, Hämorrhagien, Agranulozytose, Nierenfunktionsstörungen (Abfall des renalen Blutflusses und der glomerulären Filtrationsrate, papilläre Nekrosen, chronisches Nierenversagen, Hyperkalzämie, Ödem, Hyperkaliämie), Dekompensation einer Herzinsuffizienz, Anstieg der Lebertransaminasen im Blut, Hautreaktionen (Erythema multiforme, Stevens-Johnson Syndrom), Bronchospasmus (Hypersensitivitätsreaktionen, NSAR-Asthma), Kopfschmerz und Übelkeit. Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten müssen vor allem im Alter und beim multimorbiden Patienten beachtet werden. Die Blutungs- und Ulkusrisiken im Gastrointestinaltrakt können bei Kombination mit Glukokortikoiden potenziert werden.

Gesteigerte Prostaglandinsynthese geht mit einer phlogistisch getriggerten Knorpel- und Knochenzerstörung einher. Bei der RA sind die proinflammatorischen Zytokine in der

Lage, die Matrixsynthese zu hemmen sowie die Freisetzung von Matrixbestandteilen durch Induktion von Matrixproteasen in Chondrozyten zu erhöhen. Mastbergen et al. konnten zeigen, dass Coxibe durch ihre selektive COX2-Hemmung in Knorpelzellkulturen von RA Patienten eher chondroprotektive Eigenschaften aufweisen und den Proteoglykanstoffwechsel in den Knorpelzellen wieder normalisieren können, während der gesunde Knorpel unbeeinflusst bleibt. Selektive COX2-Hemmer schützen in vitro vor Zytokin induzierter Knorpelzerstörung (Cha et al. 2004, Mastbergen et al. 2002). Ähnliche Ergebnisse bezüglich der selektiven COX2-Hemmer konnten auch in Tierversuchen mit adjuvanter Arthritis präsentiert werden (Anderson et al. 1996, Gilroy et al. 1998, Masaki et al. 1998). Als Beispiel zeigten Noguchi et al., dass Celecoxib signifikant die Gelenkschwellung, Hyperalgesie, die Gelenkdestruktion und Periostitis inhibiert. Diese Effekte waren versus nsNSAR ausgeprägter, verbunden mit weniger gastrointestinalen Ulcera (Noguchi et al. 2005). Cha et al. machten darauf aufmerksam, dass sich die Synovia von RA Patienten bei der Pannusbildung ähnlich einem Tumor verhält. Stimuliert durch $\text{TNF}\alpha$ und IL1 werden zum aggressiven und invasiven Wachstum Matrixmetalloproteinasen verwendet, deren Aktivität durch Celecoxib deutlich gesenkt werden konnte (Cha et al. 2004). Ebenso ist bekannt, dass NSAR dem Knochenverlust bei älteren Frauen entgegenwirken (Morton et al. 1998). Auch Masaki et al. und Murakami et al. konnten bei induzierter Tierarthrititis zeigen, dass NSAR und Prostaglandin H Synthetase Hemmer durchaus die Potenz haben, neben einer Besserung der Gelenkschwellung auch der Abnahme der Knochendichte entgegenzuwirken und die Crosslinks zu senken (Masaki et al. 1998, Murakami et al. 1998). Vergleichend fanden Bolzner et al. bei der ankylosierenden Spondylitis mit NSAR Therapie verringerte Werte für PYD und DPYD (Bolzner et al. 2003, Muller et al. 2007). Entscheidend für NSAR ist die Prostaglandinsynthesehemmung, welche die Entzündung, die Schmerzen, aber auch die Knorpel- und Knochendestruktion vermindert (Cha et al. 2004).

Theoretisch wäre also durch NSAR, v.a. durch Coxibe, eine Normalisierung der Prostaglandinwerte denkbar. Damit würde die prostaglandinvermittelte Chondroklastenaktivität abnehmen, die Glykosaminoglykansynthese wieder ansteigen und dies vor einer Knorpelerrosion schützen. Eine Verminderung der Zerstörung der Knorpel- und Knochenmatrix durch NSAR wäre neben der analgetischen und antiinflammatorischen Komponente ein entscheidender Benefit bei der Behandlung einer rheumatoiden Arthritis. Laborchemisch würde das Aufhalten der Resorptionsprozesse im Knorpel und Knochen mit einem geringeren Crosslinkspiegel im Urin einhergehen.

Ob der protektive Effekt allein auf die COX2-Blockade beschränkt werden kann und ob NSAR adverse Effekte über die COX1-Hemmung auf die COX1 essentielle Chondrozytenfunktion haben, ist noch Stoff vieler Diskussion. Nicht zuletzt konnten diverse Studien neben der deutlichen Reduktion der Symptome Ödem, Rubor, Calor, Dolor und Functio laesa keinen statistischen Zusammenhang zwischen NSAR Einnahme und Knorpelzerstörung bzw. Knorpelschutz herstellen (de Vries et al. 1988, Brooks 1993). Forwood postulierte sogar, dass die COX2 selbst eine wichtige Funktion bei der Neubildung von Osteoblasten hat und bei Knochenformations- als auch bei Resorptionsprozessen vermehrt gebildet wird. Sie sei wichtig für die lamelläre Knochenbildung und die mechanische Stärke (Forwood 1996).

Im Widerspruch zu den bisherigen Aussagen finden sich kontroverse Literaturquellen, die bei der rheumatoiden Arthritis keinen Unterschied in der Crosslinkausscheidung mit versus ohne NSAR Therapie erkennen konnten (Molenaar et al. 2000, Seibel et al. 1989, Sinigaglia et al. 1995).

Glukokortikoide

Nachdem 1948 erstmals Glukokortikoide (GK) aus der Nebennierenrinde isoliert wurden, stellte sich die Frage nach dem therapeutischen Effekt bei der rheumatoiden Arthritis. Der Gedanke erschloss sich aus der Kenntnis, dass oft bei Schwangerschaft sowie beim Ikterus, infolge gesteigerter Steroidbelastung des Körpers, die Progredienz einer Polyarthritis sistiert (Hench PS 1949). Nach der anfänglichen Begeisterung über die eindrucksvolle Symptomverbesserung durch Cortison erkannte man schnell, dass eine kurative Therapie auch mit dieser neuen Substanz nicht möglich war. Aufgrund der Nebenwirkungen, ebenso durch das später entwickelte synthetische Prednisolon, bezahlten die Patienten bei langfristiger Einnahme einen hohen Preis. Dennoch haben Glukokortikoide bei der Behandlung einer RA eine Sonderstellung. Ihre Wirkung ist im aktiven Schub besonders effektiv. Sie verbessern signifikant die Schmerzen, die Entzündung, die Griffstärke der Hände und vermindern die Progression und den Gelenkbefall besonders in Kombination mit DMARDs. Eventuell haben sie auch DMARD ähnliche Wirkungsmechanismen. Sie modulieren Leukozyten, Endothel, Fibroblasten, hemmen die Bildung und Funktion inflammatorischer Zytokine z.B. IL1 durch Steigerung antiinflammatorischer Mediatoren und vermindern die Expression von Kollagenasen und knorpelabbauenden MMPs aus Fibroblasten und Chondrozyten (van Everdingen et al. 2002). GK binden an einen intrazellulären zytoplasmatischen Hormonrezeptor. Dies führt zur immunmodulierenden

Synthesehemmung von $\text{TNF}\alpha$, Adhäsionsmolekülen, IL 1 und 2. Durch Glukokortikoide wird die Aktivität der Phospholipase A2 gehemmt, begleitet von einer reduzierten Prostaglandin-, Thromboxan- und Leukotriensynthese. Zusätzlich wird durch Steroide die Transkription der Cyclooxygenase gehemmt (Stichtenoth et al. 2001). Ein weiterer Vorteil besteht im geringeren Bedarf an nichtsteroidalen Analgetika bei gleichzeitiger Steroidsubstitution.

Limitiert wird der Einsatz von Glukokortikoiden durch die zahlreichen Nebenwirkungen, die vor allem bei einer Hochdosis-Therapie und bei Langzeitbehandlung auftreten. Die antianabole und die katabole Wirkung auf den Proteinstoffwechsel führen zur negativen Stickstoffbilanz bei diabetogener Stoffwechselstörung. Klinisch ist dies an der sogenannten Steroidosteoporose, der Myopathie sowie der Muskelatrophie erkennbar („Kortisonrheumatismus“). Eindrucksvoll ist auch das Bild des iatrogenen exogenen Cushing Syndroms, ein Ausdruck der Fettumverteilung und der mineralokortikoiden Nebenwirkungen bei langfristiger Überschreitung der sogenannten Cushing-Schwellendosis. Die aktuellen Leitlinien des DVO (Dachverband Osteologie) empfehlen daher eine frühzeitige „step-down“ Therapie und begleitende Osteoporoseprophylaxe bei mehr als 3 Monaten Glukokortikoidtherapiedauer bzw. Nachweis einer osteoporosetypischen Fraktur. Die frühere Grenze von $\geq 7,5\text{mg/d}$ Prednisolonäquivalent für eine Osteoporoseprophylaxe wurde abgeschafft, da bereits bei weniger als $2,5\text{mg/d}$ Prednisolonäquivalenz ein deutlich erhöhtes Frakturrisiko bestehen kann (lt. DVO). Die individuelle Frakturgefahr sollte durch Risikofaktoren aus Anamnese und körperliche Untersuchung (Geschlecht, BMI, Alter, Nikotin, Risikoscore z.B. nach (van Staa et al. 2005) neu evaluiert werden. Gesteigertes Infektionsrisiko, Bluthochdruck, psychische Auffälligkeiten, Kataraktbildung, hämatologische Veränderungen wie Leukozytose und Lymphopenie (bis hin zur Immunparalyse) sind weitere häufige Nebenwirkungen von GK. In der Praxis wird daher immer die kleinste wirksame Dosis in der Dauertherapie angestrebt.

Der antiinflammatorische Effekt von Glukokortikoiden vermindert die im Rahmen einer Arthritis mögliche entzündungsvermittelte gelenknahe Osteoporose, bewirkt allerdings eine generalisierte Osteoporose (Hansen et al. 1999). Die Wirkung auf das RANKL/OPG System (receptor activator of nuclear factor- κ binding ligand/Osteoprotegerin) resultiert in einer verstärkten Osteoklastenaktivierung mit verlängerter Lebenszeit und Induktion der Apoptose von Osteoblasten und Osteozyten (Manolagas und Jilka 1995, Delany et al. 1995, Kirwan 1995, van Everdingen et al. 2002, Hofbauer und Heufelder 2001, Brosch et

al. 2003). Vor allem die Langzeitbehandlung führt zu einer verminderten Zellproliferation der Osteoblasten im Knochenmark und deren verminderte Proteinsynthese (Kollagen 1, Osteocalcin, alkalische Phosphatase) (Delany et al. 1995). Zusätzlich gibt es verschiedene Hypothesen, wie z.B. eine verminderte intestinale Kalziumresorption oder ein erhöhter renaler Kalziumverlust, um den Knochenschwund und ein erhöhtes Frakturrisiko zu erklären (Jensen et al. 2001). Histomorphologisch unterscheidet sich die glukokortikoidinduzierte Osteoporose durch Verschmälerung der Spongiosabälkchen, während die postmenopausale Osteoporose zum kortikalen Knochenschwund und zu trabekulärer Perforation neigt (Dalle Carbonare et al. 2002, Hein 2007). Klinisch zeigt sich dies an einer erhöhten Frakturneigung vor allem in spongiosareichen Knochen (z.B. Wirbelkörper).

In einem Tierversuch an Ratten mit induzierter Arthritis gingen Larsson et al. auf die Frage ein, ob Glukokortikoide ähnlich wie Basistherapeutika auch die Knorpel und Knochenresorption aufhalten können. Neben den histologischen Untersuchungen verwendeten sie den Serum-COMP Wert als Abbaumarker und konnten zeigen, dass unter Steroidtherapie deutlich weniger Synovitis, Zellinfiltration, Knorpeldestruktion und ossäre Erosionen, verbunden mit signifikant geringeren COMP Spiegeln, vorkamen (Larsson et al. 2004). In placebokontrollierten Doppelblindstudien verminderten niedrigdosierte Steroide die radiologische Progression einer frühen RA. Eine gleichzeitige NSAR und VitaminD+Kalzium Behandlung wurde hierbei meist nicht mit berücksichtigt (Wassenberg et al. 2005, Kirwan 1995).

Langzeitsteroidbelastung des Körpers scheint trotz knorpelprotektiven Eigenschaften die Crosslinkausscheidung im Urin zu erhöhen (Astbury et al. 1994, Seibel et al. 1989). In einer multizentrischen Querschnittstudie an Frauen mit rheumatoider Arthritis war eine Tendenz zu höheren Pyridinolin Crosslinks unter Steroidtherapie deutlich erkennbar. Die DPYD Werte unterschieden sich jedoch nicht sonderlich voneinander (Jensen et al. 2001). Die totalen und proteingebundenen Pyridinoline zeigen ähnliche Bestrebungen unter diesem Medikament (Takahashi et al. 1999). Allerdings ist zu berücksichtigen, dass in diesen Studien die Patienten, die Steroide bekamen, auch von Grund auf meist höhere Entzündungsparameter hatten. Somit ist zu beachten, dass in der Regel Patienten aufgrund einer höheren klinischen Krankheitsaktivität Glukokortikoide bekommen und diese höhere Prozessaktivität schon Einfluss auf die erhöhten Crosslinkspiegel haben kann. Seibel et al. konnte sogar signifikante Differenzen für PYD und DPYD mit höheren Werten unter Langzeitglukokortikoidtherapie feststellen (Seibel et al. 1989). Allgemein sprechen die

bisherigen Daten mehrheitlich für eine gesteigerte Knochenresorption mit höherer Crosslinkausscheidung unter Glukokortikoiden trotz Hemmung der Proteinsynthese und antiphlogistischer Potenz, die bei schneller „step down“ und „low dose“ Therapie eine radiologische Progression bei RA sogar für kürzere Zeit vermindern mag (Hickling et al. 1998). Dieser ambivalente Effekt einer begleitenden Steroidtherapie auf den Knorpel- und Knochenstoffwechsel sollte bei der Beurteilung der Crosslinklevel im Urin auch in unserer Studie Beachtung finden.

Basistherapeutika

Die Basistherapeutika umfassen eine Gruppe von Substanzen, die chemisch nicht in jedem Fall miteinander verwandt sind und zum Teil auf unbekannte Weise wirken oder sich entgegen dem pathophysiologischen Verständnis bei der Therapie einer rheumatoiden Arthritis durchgesetzt haben. Ihr krankheitsmodifizierender Charakter entfaltet sich häufig erst nach 4-16 Wochen und moduliert Krankheitsaktivität, Funktionalität, Lebensqualität und radiologische Progredienz.

Zu den ältesten bekannten Basistherapeutika gehören die organischen Goldpräparate. Hier ist der exakte Wirkungsmechanismus nicht bekannt, soll aber über die Hemmung lysosomaler Enzyme, der Phagozytose, der Chemotaxis, der Zytokinproduktion, der MMPs und der Pannus-Angiogenese vermittelt werden. Gold wird derzeit nur noch in Ausnahmefällen eingesetzt.

Das heute am häufigsten eingesetzte antirheumatische Medikament dieser Gruppe ist das Methotrexat. Obwohl die Wirkung bei vielen rheumatischen Erkrankungen nachgewiesen ist, ist Methotrexat derzeit nur für die Arthritis psoriatica und die rheumatoide Arthritis zugelassen. Für letzteres gilt es sogar häufig als Mittel der ersten Wahl und sollte neben frühen und progredienten Fällen auch bei langjähriger destruierender Arthritis eingesetzt werden. Als Antimetabolit hemmt es durch seine höhere Affinität zur Folsäurereduktase die Synthese der Tetrahydrofolsäure und vermindert dadurch die Synthese von Purinen und Pyrimidinen. Neben dieser zytostatischen Komponente wurden noch andere Wirkprinzipien beschrieben, die mit antiphlogistischen Effekten synergistisch wirken. Methotrexat wird zur Langzeittherapie einmal wöchentlich in einer Dosis von ca. 10-20mg gegeben. Zur Milderung der Nebenwirkung wird in der Praxis meist Folsäure 5-10mg am Tag nach der Methotrexateinnahme substituiert. Neben der Gefahr einer interstitiellen Pneumonitis durch ein erhöhtes Infektionsrisiko, gastrointestinalen Ulcera und Leberfunktionsstörungen kann gerade in Kombination mit NSAR die glomeruläre

Filtrationsrate abnehmen. Umstritten ist derzeit noch die Existenz einer MTX Osteopathie. Eine Störung der Osteoblastenfunktion mit Stimulierung der Osteoklasten soll dafür verantwortlich sein (Westhovens und Dequeker 2000, Kalantzis et al. 2005). Allerdings konnte bisher keine eindeutig gesteigerte Osteoporoserate unter MTX nachgewiesen werden (di Munno et al. 2004).

Sulfasalazin hat seit der COBRA Studie als Monotherapie an Wert verloren, ist aber wegen der relativ kurzen Anlaufzeit und der effektiven immunmodulierenden Wirkung gerade in der Kombination mit anderen Basismedikamenten immer noch beliebt (Boers et al. 1997).

Ein weiteres, relativ neues sowie potentes Basismedikament ist Leflunomid. Seine antiproliferative und antiphlogistische Wirkung wird meist bei der aktiven RA genutzt. Durch Inhibierung der Pyrimidinsynthese sind vor allem die T-Lymphozyten und ihre Zytokinproduktion (IL1 und TNF α) betroffen.

Azathioprin als Antimetabolit für die Nukleotidsynthese reduziert die Zahl der Lymphozyten und inhibiert die Antikörperbildung.

Die Antimalariamittel Chloroquin und Hydroxychloroquin sind als gutverträgliche Basistherapeutika bekannt und wirken vor allem bei der frühen und unkomplizierten RA antiphlogistisch.

Bei der frühen RA und bei Ausschöpfung der konventionellen Basistherapeutika werden seit einigen Jahren biologische Immunmodulatoren (Biologicals) eingesetzt. Zu ihnen gehören TNF α -Inhibitoren (Infliximab und Adalimumab als TNF α -Antikörper und Etanercept als TNF α -Rezeptorantagonist) und Interleukin-1-Rezeptorantagonisten (Anakinra). Beide Zytokine (IL1 und TNF α) spielen eine Schlüsselrolle bei der rheumatischen Gelenkdestruktion. Ihre Ausschaltung kann auch noch bei der therapierefraktären RA einen Erfolg zeigen. Hohe Kosten und Unsicherheiten über mögliche Konsequenzen durch Eingriffe in das Immunsystem führen noch zu begrenzter Anwendung.

Effektivität zeigen ferner Kombinationstherapien mit verschiedenen Basistherapeutika. Außerdem werden GK gern zur Ergänzung eingesetzt. Sie können gerade bis zum Wirkungseintritt der Basistherapeutika die Krankheitsaktivität effektiv unterdrücken. Trotz aller Bemühungen werden Remissionen nur selten erreicht und eine Prognoseverbesserung im Sinne einer restitutio ad optimum ist umso bedeutungsvoller.

Begleitosteoporose und Osteoporosetherapie

Im Rahmen rheumatologischer Erkrankungen entstehen häufig entzündungsbedingte sekundäre Osteoporosen. Dieser diffuse Verlust an Knochensubstanz ist mit einem hohen Frakturrisiko verbunden (Maddison und Bacon 1974). Kennzeichnend für die RA ist die gelenknahe Osteoporose und später der generalisierte Knochenverlust, verbunden mit erhöhter Crosslinkausscheidung im Urin (McLaren et al. 1993, Gough et al. 1994). Zusätzlich problematisch bei Rheumapatienten ist die Toxizität einer Langzeit Glukokortikoidtherapie, die zu einer Begleitosteoporose führen kann und ebenfalls mit gesteigerter PYD und DPYD Ausscheidung einhergeht (Seibel et al. 1989). Dabei ist anzumerken, dass die Einschränkung der körperlichen Aktivität allgemein im Alter und zusätzlich durch die rheumatologische Schmerzsymptomatik zur Abnahme der Knochenmasse beiträgt. Gerade letzteres kann jedoch durch Steroide vermindert werden und dem Patienten Mobilität sowie damit Reize für neuen Knochenaufbau ermöglichen (Kollerup et al. 1994). Nicht unbedeutend ist auch, dass Steroide vor allem bei der schweren und aktiven RA zur Therapie herangezogen werden, bei der wiederum von Grund auf ein hohes Osteoporoserisiko besteht (Kroger et al. 1994). Ferner spielt neben vielen anderen osteoprosebegünstigenden Faktoren (familiäre Belastung, Körpergewicht, Rauchen, Alkoholkonsum, Ernährung, etc.) bei einem Großteil der RA Patienten (auch in unserem Patientenkollektiv) die Störung des physiologischen Knochenremodelings im Alter eine bedeutende Rolle. Mit dem abfallenden Östrogenspiegel in der Menopause ändert der Knochen seine Materialeigenschaft und verliert an Festigkeit (Hein 2007).

Mit Hilfe der Knochendichtemessung der Lendenwirbel und des Femur (DEXA-Methode= Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie) kann die Osteoporose frühzeitig diagnostiziert und im Verlauf kontrolliert werden. Dabei kann grob in normale Knochendichte, Osteopenie und Osteoporose unterschieden werden (lt. WHO T-Score -1 bis -2,5 bzw. $\leq -2,5$). Die Diagnosen in unseren Untersuchungen basieren auf einer solchen DEXA Untersuchung, wobei wir zur Vereinfachung die Diagnosen Osteopenie und Osteoporose zusammenfassten. Weitere Methoden zur Osteo-Densitometrie (Knochendichtemessung) sind die quantitative Computertomographie (QCT) und die Ultraschallmessung.

Zur evidenzbasierten Behandlung einer Osteoporose zählen vorrangig das Vitamin D+Kalzium und die stickstoffhaltigen Bisphosphonate. Aktivierte Vitamin D-Metabolite, Calcitonin und Fluoride wirken auch auf die Knochendichte, sind jedoch nur speziellen Patientengruppen vorbehalten. Das vollständige multimodale Therapiespektrum der

Osteoporose ist nicht Thema dieser Arbeit. Aus diesem Grund soll nur auf die beiden oben Genannten kurz eingegangen werden.

Vitamin D (=Calciferol) gehört zur Gruppe der fettlöslichen Vitamine und wird nach endogener Synthese in der Haut (Vitamin D₃=Cholecalciferol) bzw. oraler Aufnahme (Vitamin D₂=Ergocalciferol) in Leber und Niere durch Hydroxylierung aktiviert. Die im Alter verminderte Vitamin D₃ und Kalzium Zufuhr, die verminderte Kalziumresorption im Darm und die geringere endogene Vitamin D Synthese sowie Aktivierung bedingen einen relativen Mangel, der häufig mit einem sekundären Hyperparathyreoidismus und beschleunigtem Knochenabbau einhergeht. Ausgeglichen werden kann dieses Defizit mit einer täglichen Supplementierung von 400-1200IE Vitamin D (1IE=0,025µg Cholecalciferol) kombiniert mit 1000-1500mg Kalzium, meist in oraler Applikation (Gennari 2001, Murray 1996). Inflammatorische Mediatoren wie TNFα fördern den Apoptosemechanismus in Osteoblasten. Dieser Prozess kann durch aktiviertes Vitamin D gehemmt werden, welches im Serum von RA Patienten deutlich vermindert gefunden wird. Durch weitere immunmodulierende Wirkmechanismen wie die Hemmung der T-Lymphozyten-Proliferation, der IL1 und IL6 Sekretion und des Wachstums mononukleärer Zellen wird ein gewisser antirheumatischer Effekt des Vitamin D vermutet (Scharla et al. 2000). Adjuvante VitaminD+Kalzium Substitution führt bei RA außerdem zur Abnahme der klinischen und paraklinischen Entzündungsaktivität sowie zur Reduktion von Zytokinen, PYD (p=0,022) und DPYD (Hein und Oelzner 2000).

Schon seit über 30 Jahren ist die antiresorptive Eigenschaft der damaligen „Diphosphonate“ bekannt (Fleisch et al. 1969). Sie sind Analoga der im Körper vorkommenden Pyrophosphate. Die heute gebräuchlichen synthetischen aminohaltigen Bisphosphonate (z.B. Alendronat, Etidronat, Risedronat, Zolendronat) entfalten ihre antiresorptiven Eigenschaften vor allem durch Hemmung des Mevalonat-Stoffwechsels der Osteoklasten ohne negativen Effekt auf die Osteoblasten (Rodan und Fleisch 1996). Dies führt zur andauernden positiven Knochenbilanz im gesamten Knochen mit reduziertem Knochenremodeling. Ein residualer Basisknochenumsatz ermöglicht dennoch den trabekulären Umbau und führt zu mechanischer Resistenz. Die Zulassung besteht derzeit vor allem für postmenopausale Frauen. Diese profitieren neben der gesteigerten Knochendichte auch von einem verminderten Frakturrisiko (Campbell et al. 2004, Adachi et al. 2000). Die verschiedenen Bisphosphonate entstehen durch Substitution verschiedener Kohlenstoffseitenketten am Bisphosphonatmolekül und unterscheiden sich in biologischen Eigenschaften, Pharmakokinetik, Pharmakodynamik und Toxizität. Der

Bisphosphonatknöchen ist durch eine verminderte Auflösbarkeit, verkürzte Osteoklastenlebensdauer, verringerte Osteoklastenbildung und gesteigerte Osteoblastensynthese gekennzeichnet. Dies erhöht die Knochendichte z.B. in Wirbelkörpern und Hüfte jedoch mit nur geringem Effekt auf den fokalen juxtaartikulären Knochenverlust bei RA und ist mit einer Senkung der Kollagen-Crosslinkausscheidung im Urin verbunden (Chesnut et al. 1995, Srivastava et al. 2003, Eggelmeijer et al. 1996). In der Tumorthherapie gilt eine additive analgetische Potenz der Bisphosphonate bei vorhandenen Skelettmetastasen als gesichert (Heidenreich et al. 2001). Daneben konnte für Bisphosphonate ebenso eindeutig ein knorpelprotektiver Effekt nachgewiesen werden (Lehmann et al. 2002). Manche Arbeiten fanden die Unterschiede vor allem für das aus Kollagen I stammende DPYD und davon die konjugierte Form (Wilkinson et al. 2003). Ähnliches beschrieben auch Tobias et. al bei denen es fast keine Unterschiede bei der PYD Ausscheidung gab, jedoch das proteingebundene DPYD durch Bisphosphonate signifikant gesenkt werden konnte (Tobias et al. 1996). Calciferol mit Kalzium und auch Bisphosphonate sind in der Lage, bei RA Patienten mit gleichzeitig niedrigdosierter Steroidtherapie dem osteodensitometrisch nachweisbaren Kalksalzverlust entgegenzuwirken (Adachi et al. 1996, Eastell et al. 2000, Buckley et al. 1996).

3. ZIELSTELLUNG

Aufgabe der Arbeit war es, den Einfluss differenter antirheumatischer Pharmakotherapie bei RA Patienten auf die Kollagen-Crosslinkspiegel im Urin als Marker für die Knorpel- und Knochendestruktion unter Beachtung soziodemographischer Einflussfaktoren zu beurteilen. Zur Evaluierung eines repräsentativen Patientenkollektives wurden Subgruppenanalysen anhand von demographischen Daten durchgeführt. Dabei sollten deskriptive Ergebnisse und Mittelwertunterschiede dargestellt und die Abhängigkeit der Pyridiniumcrosslinkwerte im Gesamtkollektiv von Alter und Geschlecht demonstriert werden. Korrelationsanalysen sollten den Zusammenhang zu paraklinischen Variablen der Entzündungsaktivität, zum Alter und der Erkrankungsdauer prüfen. Zum Vergleich mit RA Patienten sollten ein gesundes Kontrollkollektiv und Patienten mit nachgewiesener Osteoporose (ohne RA) untersucht werden. Um soziodemographische Einflussfaktoren weitestgehend zu reduzieren, wurde nach dieser orientierenden Untersuchung eine Subgruppe einer detaillierten Betrachtung der Kollagen-Crosslinkausscheidung bei differenter Medikamenteneinnahme unterzogen. Hierbei wurden vorrangig folgende Fragen untersucht:

- Besitzen RA Patienten mit differenter NSAR Therapie gegenüber Patienten ohne NSAR gleiche Kollagen-Crosslinklevel im Urin oder haben nsNSAR bzw. Coxibe hemmende Eigenschaften auf den Kollagenabbau, repräsentiert durch geringere CL-Spiegel im Urin?
- Unterscheiden sich Patienten mit GK Therapie in der Urincrosslinkausscheidung von RA Patienten ohne Steroide?
- Gibt es Interferenzen zwischen beiden Medikamenten bezüglich der Kollagen-Crosslinkausscheidung im Urin?
- Welchen Einfluss haben eine Begleitosteoporose und eine Osteoporosetherapie bei der Bewertung der Crosslinkspiegel von RA Patienten?
- In welchen Umfang unterscheiden sich die Kollagen-Crosslinks bei Patienten ohne Basistherapeutika vs. mit Methotrexat behandelten Patienten unter weitestgehender Ausschaltung von Störfaktoren?

Ziel war es, mit den gewonnen Ergebnissen die Kollagen-Crosslinkausscheidung bei RA besser einzuordnen. Dies ermöglicht uns im Hinblick auf den Kollagenabbau eventuell auch Rückschlüsse auf die Effektivität einer Behandlung von RA Patienten.

4. MATERIAL UND METHODEN

4.1. PATIENTEN

Für unsere Querschnittstudie wurden zur Untersuchung 228 Patienten mit rheumatoider Arthritis rekrutiert und retrospektiv analysiert. Die Diagnose basierte auf den Kriterien der American College of Rheumatology (ACR von 1987). Die Probensammlung erfolgte im Rahmen der üblichen Verlaufskontrollen in der rheumatologischen Ambulanz des Klinikums der FSU Jena. Das Einverständnis der Probanden und ein positives Votum der Ethikkommission der medizinischen Fakultät FSU Jena lagen vor. Zum Abnahmezeitpunkt erfolgten gleichzeitig die Messung der Blutsenkungsgeschwindigkeit nach Westergren und die quantitativ nephelometrische Bestimmung des C reaktiven Proteins, als Nachweis der paraklinischen Prozessaktivität. Beide Parameter wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Klinikums der FSU Jena ermittelt.

Weiterhin wurden die Erkrankungsdauer, Begleiterkrankungen und die aktuelle rheumatologische und osteologische Medikation (VitaminD+Kalzium und Bisphosphonate, Glukokortikoide, nichtsteroidale Antirheumatika und Basistherapeutika) des Probanden erfasst. Aus dem gegenwärtigen Stand der Patientenakte entnahmen wir die Diagnosen Osteoporose bzw. Osteopenie. Sie basieren auf der DEXA-Methode, welche durch das Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie der FSU Jena im Rahmen der Verlaufskontrollen durchgeführt wurden. Neben den serologischen und klinischen Daten stand die Messung der aus dem Urin extrahierten Pyridiniumcrosslinks Pyridinolin und Desoxypyridinolin in ihrer peptidhaltigen und freien Form im Mittelpunkt.

Das durchschnittliche Alter der RA Patienten lag bei 61 Jahren (19-85 Jahre) und die mittlere Erkrankungsdauer betrug etwa 11,4 Jahre. Unter den Testpersonen befanden sich 179 Frauen und 49 Männer. Rund 82% aller Frauen mit RA waren über dem 50. Lebensjahr (Grafik 1).

Grafik1: Konsistenz des RA Gesamtkollektives

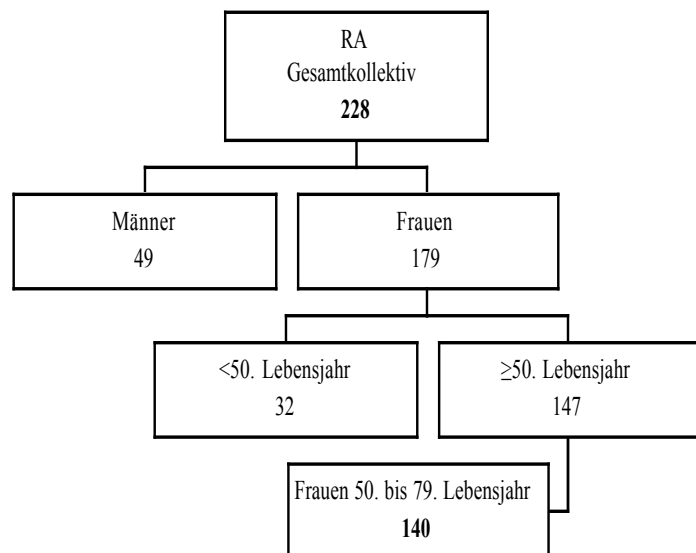


Abbildung 2 verdeutlicht, dass die Mehrheit der RA Patienten zwischen dem 45. und 79. Lebensjahr alt war. Von der Gesamtpopulation nahmen etwa die Hälfte keine oralen Glukokortikoide (Tabelle 1). 54% nahmen regelmäßig nsNSAR (Diclofenac, Ibuprofen, Indomethazin, Lornoxicam, Piroxicam, Lornoxicam, Meloxicam, Aceclofenac, Azemetazin), 32% nahmen Cyclooxygenase 2 selektive Antirheumatika (Rofecoxib, Celecoxib, Valdecoxib) und 31 Patienten nahmen keine NSAR. Ein ähnliches Verteilungsmuster ergab sich auch im selektierten Patientenkollektiv bei RA Patientinnen (Grafik7).

Bei den Basistherapeutika bildete MTX den Hauptanteil mit 127 Probanden. 36 Personen nahmen Leflunomid. Azathioprin, Sulfasalazin, Hydroxychloroquin und die Biologicals waren mit kleiner als 10% klar in der Minderheit. Etwa 9% von 228 Patienten nahmen gar keine Basismedikamente. Die eingenommene Dosis der NSAR, GK, DMARD und Osteoporosemedikamente lagen innerhalb der jeweils zugelassenen Arzneimitteldosis. Keine der Patientinnen bekam eine Hormonersatztherapie. Das Datenmaterial des gesunden Kontrollkollektives und der Osteoporosevergleichsgruppe stammten aus der Dokumentationsbank unseres Labors. Hierbei wurden 161 Proben von gesunden Probanden und 185 Proben von Osteoporosepatienten zum Vergleich herangezogen.

Grafik 2: Altersverteilung aller RA Patienten mit Geschlechteraufteilung

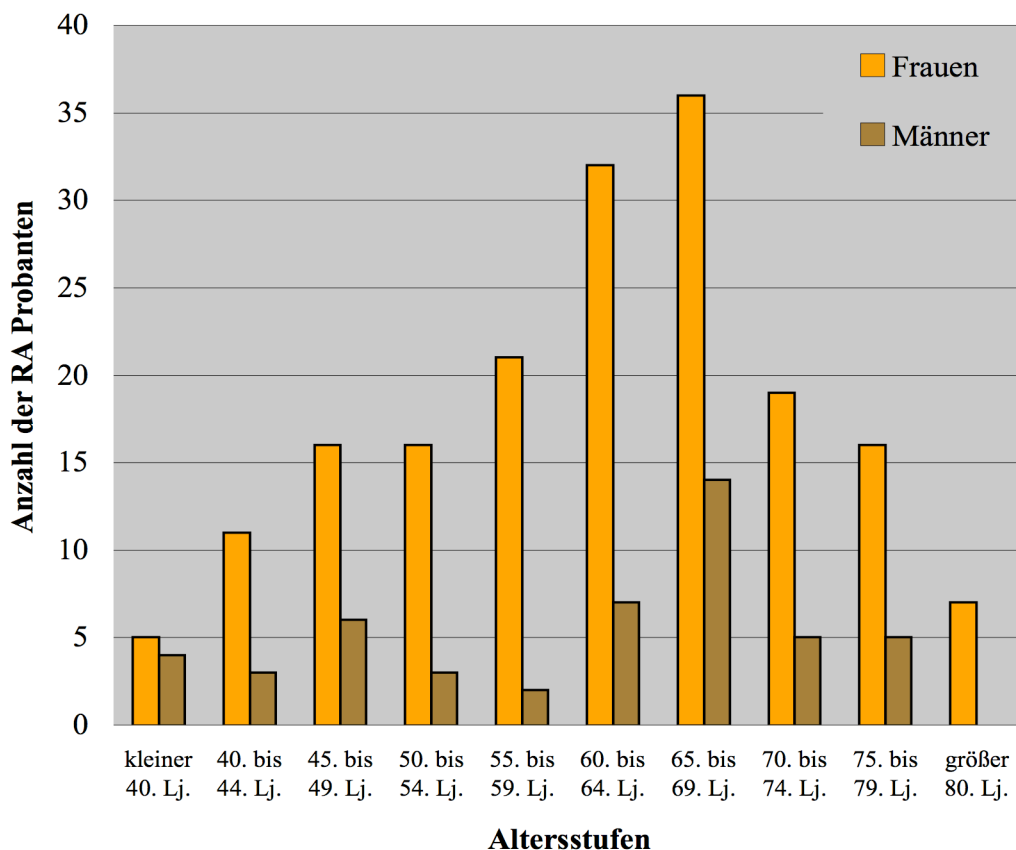


Tabelle 1: Daten des untersuchten RA Patientenkollektives

N=228	Mittelwert	(SD)	Min.-Max.
Alter (Jahre)	60,87	(12,18)	19-85
Krankheitsdauer(Jahre)	11,43	(9,95)	1-71
CrP (mg/l)	8,81	(9,81)	<3-58,5
BSG (mm/1h)	18,75	(15,71)	1-102
Geschlecht ♂/♀ (N)	49/179		
NSAR ja/nein (N)	197/31		
GK ja/nein (N)	112/116		
DMARD ja/nein (N)	208/20		

4.2. BESTIMMUNG DER KOLLAGEN-CROSSLINKS

Für die Bestimmung der Crosslinks im Urin entschieden wir uns für die High Performance Liquid Chromatographie (HPLC). Sie ist der Gold-Standard, erlaubt hochsensitive, valide Messungen der Kollagen-Crosslinks und ist in unserem Labor langjährig etabliert.

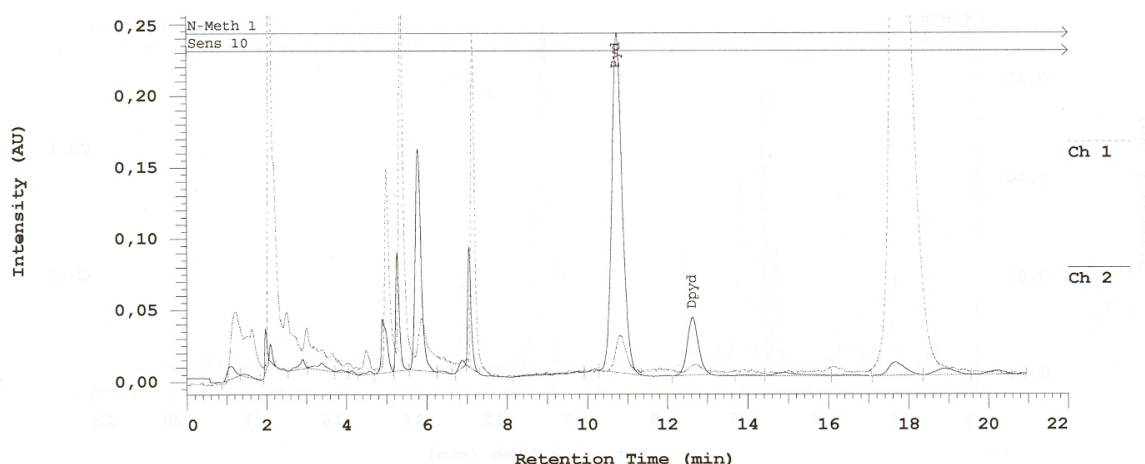
Um den Einfluss einer zirkadianen Rhythmik auszuschalten, wurde nur Morgenurin der Patienten abgenommen, der Urin-Kreatininwert bestimmt und sofort im Labor bei minus 20°C eingefroren, um später zur Probenaufbereitung und Messung wieder aufgetaut zu werden. Für die Analyse mittels HPLC Apparatur mussten die Proben vorher sorgfältig präpariert werden, um Substanzen abzutrennen, die für die nachfolgende eigentliche Untersuchung störend waren. Um ein peptidfreies Material für die Ermittlung der Gesamtcrosslinks zu erhalten, wurden 250µl Urin mit ebensoviel Salzsäure (32%ig) gemischt und über Nacht (ca. 16 Stunden) bei 116°C hydrolysiert. Bei der Bestimmung der natürlichen freien CL wurde die Proteolyse auf eine halbe Stunde verkürzt. Für die Probenvorbereitung mussten drei verschiedene Lösungen hergestellt werden.

1. Mobile Phase bestehend aus Wasser, Eisessig und Butanol im Verhältnis 1:1:4
2. Reaktionspuffer: 100ml Eisessig und 400ml Butanol
3. Celluloselösung: 5g CC31 Cellulose aufgelöst in 50ml mobiler Phase

Gilson-Spitzen (5ml) dienten als Reinigungssäulen für die Partitionschromatographie. Sie wurden mit herkömmlicher Watte als Filter gestopft und jeweils mit 1ml der Celluloselösung gefüllt. Danach wurden alle Säulen mit 5ml Mobiler Phase kurz inkubiert und durchgespült. Zur Verminderung systematischer Fehler wurde über Nacht der hydrolysierte Urin mit 100µl internen Standard (Isodesmosin) und 3ml Reaktionspuffer im

Hydrolysegel sorgfältig gemischt, mit Pasteurpipetten auf die Säulen verteilt und mit mäßigem Unterdruck durch die Säulen gesaugt. Anschließend wurde jede Säule zweimal mit 8ml mobiler Phase gereinigt und etwa 10 Minuten unter der Absaugpumpe getrocknet. Die Säulen mussten mit 0,5ml Tetrahydrofuran gewaschen und abermals 10 Minuten Vakuumgetrocknet werden. Um die Untersuchungssubstanz nun aus der Matrix zu extrahieren, wurde mit 0,5ml Elutionslösung durchspült. Das Eluat wurde kurz bei einer Minute und 1000U/min zentrifugiert und in kleinen Bördeflaschen (Vials) überführt. Nach dieser Probenaufbereitung erfolgte die Messung der Crosslinks mittels HPLC. Die High Performance Liquid Chromatography ist eine Methode der Flüssigkeitschromatographie. Aufgrund der spezifischen Verteilung und Affinität der Probensubstanzen zwischen mobiler und stationärer Phase erfolgt eine physikalische Trennung unter hohem Druck (bis 399 bar) und resultiert in verschiedenen Retentionszeiten der Inhaltstoffe. Silicagel mit geringer Partikelgröße als stationäre Phase ermöglicht eine hohe Zahl von Trennstufen, d.h. wie oft der Stoffaustausch pro Zeiteinheit zwischen mobiler und stationärer Phase abläuft. Das Injektionsvolumen pro Analyse für die HPLC betrug 100µl. Der qualitative und quantitative Nachweis von Pyridinolin und Desoxypyridinolin beruht auf ihrer natürlichen Fluoreszenz und wird in der HPLC mit Hilfe eines UV Spektrometers gemessen. Dieser Detektor ist recht selektiv und hat einen linearen Messbereich über ein großes Konzentrationsintervall. Das Chromatogramm gibt die Fluoreszenzintensität des Eluats im zeitlichen Verlauf der Retention wieder und veranschaulicht die Verteilung der Probenkomponenten zwischen mobiler und stationärer Phase (Grafik 3).

Grafik 3: Chromatogramm zur Bestimmung von Pyridinolin und Desoxypyridinolin



Das Integral der Peaks im Verhältnis zu der internen Standardfläche ergibt die Menge der Crosslinks in nmol/l (Muller et al. 1996). Um den Unsicherheitsfaktor der Urinkonzentration zu minimieren, wurden alle Werte für das endgültige Ergebnis durch

den Urinkreatininwert (mmol/l) geteilt. Die Intraassay-Reliabilität wurde anhand der Doppelbestimmungen erhoben, die für jedes Patientenserum durchgeführt wurden. Anhand des Variationskoeffizienten konnte die Gegenüberstellung der Intraassay-Werte erfolgen. So konnten neben den üblichen Schwankungen der Messungen auch Pipettier- oder sonstige Fehler aufgedeckt und durch Messwiederholungen korrigiert werden. Für weitere Berechnungen wurde von den Doppelmessungen der Mittelwert verwendet. Die Variationskoeffizienten der Doppelbestimmungen waren akzeptabel. Im Mittel variierten die Messwerte für PYD um weniger als 5,1%. Sie lagen für DPYD aufgrund der niedrigeren absoluten Extinktion mit 7,2% geringfügig höher. Die Interassay-Reliabilität konnte anhand von Standardproben, die in jeder Messreihe mitgeführt wurden ermittelt werden und betrug für PYD ca. 14,6% und für DPYD ca. 13,9%. Die Intra- und Interassayvariationskoeffizienten entsprechen etwa bereits publizierten Daten und sind Ausdruck guter Reliabilität (Muller et al. 1996, Vesper et al. 2003, Muller et al. 2007). Der quantitative Vergleich der Crosslinkwerte mit anderen Laboratorien und Studienergebnissen ist aufgrund fehlender Normierung des HPLC Ablaufes nur eingeschränkt möglich.

Eine relevante Niereninsuffizienz wurde anhand eines normalen Serum-Kreatininspiegels in Verbindung mit einer unauffälligen Anamnese und klinischen Untersuchung ausgeschlossen.

Der proteingebundene Anteil berechnet sich aus der Differenz zwischen den Gesamtcrosslinks und der freien Fraktion. Minimale Abweichungen ergeben sich aus labortechnischen Gründen, da trotz Messwiederholungen für einzelne Patienten neben den totalen Crosslinks kein freies Pendant ermittelt werden konnte.

4.3. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS. Die Ergebnisse, die auf einem Alpha-Niveau von 0,05 signifikant voneinander abweichen, sind durch Sterne markiert. Dies entspricht einer Irrtumswahrscheinlichkeit p für den Fehler 1. Art (falsch-positiv) von kleiner 5% ($p \leq \alpha$). Der Zusammenhang zweier Merkmale erfolgte durch die Rangkorrelation nach Spearman. Die Normalverteilung wurde objektiv anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests überprüft. Da in einem großen Teil der Untergruppen keine Normalverteilung vorlag, nutzten wir zur Testung auf signifikante Mittelwertunterschiede den nichtparametrischen Test nach Mann-Whitney-U für zwei verschiedene Wertelabels und bei mehr als zwei Gruppen die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) nach Kruskal-Wallis. Die relativ robusten Varianzanalysen dienten weiterhin zur Berechnung von Wechselwirkungen zwischen zwei unabhängigen Variablen (univariate, zweifaktorielle Varianzanalyse). Univariat bedeutet, dass jede abhängige Variable (PYD, DPYD bzw. PYD/DPYD) einzeln geprüft wird. Zweifaktoriell heißt, dass die Wechselwirkung von zwei festen Faktoren, z.B. Glukokortikoid und NSAR Einnahme betrachtet wird. Hierfür wurde die Varianzgleichheit mit dem Test nach Levene überprüft. Sobald wir feststellten, dass es Abweichungen zwischen den Mittelwerten gibt (Overallsignifikanz), konnten wir mit Post-Hoc-Analysen testen, welche Mittelwerte sich unterscheiden. Bei Varianzhomogenität wurde mit dem Tukey-Test und bei Varianzinhomogenität mit dem Tamhane-T2 geprüft. Ergibt sich bei dieser Prüfung im Nachhinein eine signifikante Wechselwirkung zwischen zwei Merkmalen, so haben diese Ergebnisse einen explorativen, hypothesengenerierenden Charakter.

5. ERGEBNISSE

5.1. VERGLEICH DER RA GESAMTGRUPPE ZU DEN KONTROLLKOLLEKTIVEN

Beginnend sollte geprüft werden, ob unser Patientenkollektiv mit rheumatoider Arthritis gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe und Patienten mit Osteoporose höhere Crosslinkwerte aufweisen.

Tabelle 2: epidemiologische Daten der Vergleichsgruppen

Kollektiv	N	Alter		Verhältnis ♂/♀
		MW	(SD)	
Gesunde	161	46,18	(13,94)	61/100 1:1,64
Osteoporose	185	55,72	(11,12)	39/146 1:3,74
RA	228	60,89	(12,15)	49/179 1:3,65

Tabelle 2 vermittelt epidemiologische Angaben über Patientenzahlen, mittlere Probandenalter und Geschlechtsverhältnis. Die deskriptive Statistik ergab für Pyridinolin und den Quotienten PYD/DPYD als Marker für den Knorpelverlust die höchsten Werte bei Rheumatikern. Für Desoxypyridinolin, dem Knochencrosslink, fanden wir die höchsten Werte bei Osteoporotikern (Tabelle 3, Grafik 4+5). Dies unterstreicht die pathophysiologischen Gegebenheiten der Knochendegradation bei Osteoporose und der verstärkten Knorpeldegeneration bei RA. Durch Varianzanalysen und nachfolgende Post-Hoc Untersuchung waren in unserer RA Patientengruppe gegenüber dem Normalkollektiv PYD ($p=0,001$) und PYD/DPYD ($p=0,000$) signifikant verschieden (DPYD $p=0,105$). Gegenüber dem Osteoporosekollektiv unterschied sich jeder der drei Parameter signifikant (alle $p=0,000$). Auch die Osteoporosegruppe unterschied sich signifikant zur gesunden Kontrolle in der Crosslinkausscheidung ($p=0,000$ für PYD, DPYD und PYD/DPYD).

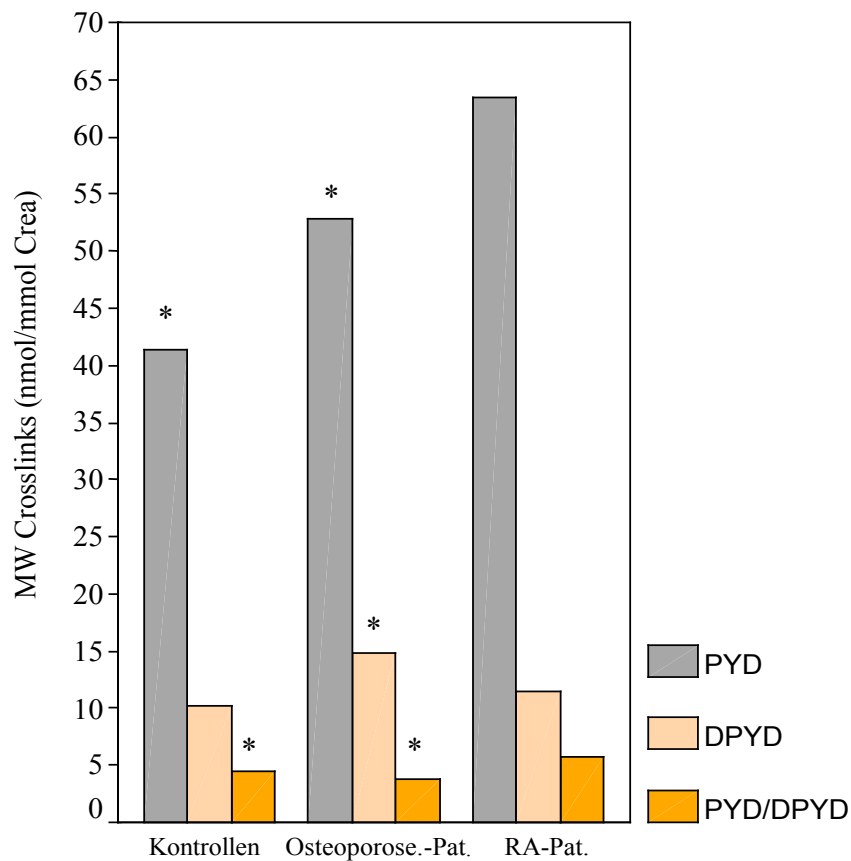
Tabelle 3: Mittelwertvergleich der Urincrosslinks zwischen den einzelnen Kollektiven

	Typ	Mittelwert	(SD)	Min.-Max.
PYD nmol/mmol Crea	Gesundes Kontrollkollektiv	41,42*	(19,71)	11,71- 122,16
	Osteoporose Kontrolle	52,64*	(30,76)	11,26- 173,06
	RA Patienten	63,46	(28,04)	17,11- 220,66
DPYD nmol/mmol Crea	Gesundes Kontrollkollektiv	10,24	(6,30)	2,94- 47,42
	Osteoporose Kontrolle	14,79*	(8,43)	2,73- 51,76
	RA Patienten	11,52	(5,24)	2,69- 46,44
PYD/DPYD	Gesundes Kontrollkollektiv	4,42*	(1,48)	0,48- 10,28
	Osteoporose Kontrolle	3,72*	(1,09)	1,69- 11,05
	RA Patienten	5,75	(1,65)	2,49- 12,59

* = Signifikanz zu RA Patienten $\alpha=0,05$

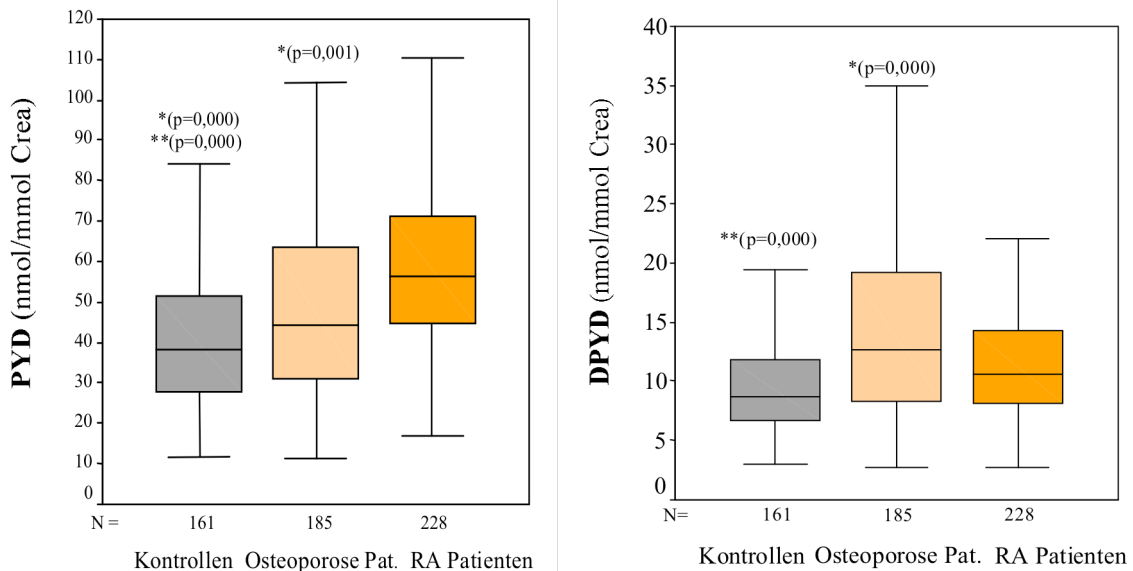
Grafik 4: Mittelwerte der Urincrosslinks der einzelnen Kollektive

* = Signifikanz zu RA Patienten $\alpha=0,05$



Die multiplen Boxplots in Grafik 5 zeigen die wichtigsten Verteilungsmerkmale der Variable PYD in den drei Untergruppen. Ein Stern markiert die asymptotische Signifikanz zur gesunden Kontrollgruppe auf einem α -Niveau von 0,05.

Grafik 5: PYD und DPYD der RA Gesamtgruppe im Vergleich zu den Kontrollgruppen



* = Signifikanz zu RA Patienten $\alpha=0,05$

** = Signifikanz gesunde Kontrollen zu Osteoporose Pat. $\alpha=0,05$

Die verschiedenen mittleren Lebensjahre zwischen den Kollektiven (Tabelle 2) könnten Differenzen in der Crosslinkausscheidung bedingen. Aber auch bei Betrachtung verschiedener Altersgruppen (Grafik 6) ergeben sich deutliche und meist einheitliche Unterschiede. Repräsentativ führten wir in der Altersgruppe 55. bis 59. Lebensjahr Mittelwertvergleiche zwischen den verschiedenen Kollektiven durch (Tabelle 4). Deutlich werden die niedrigeren PYD Werte bei den gesunden Kontrollen und die höheren PYD Werte bei den RA Patienten. Markant sind auch die höheren DPYD Level bei der Osteoporosekontrolle als Zeichen des erhöhten Knochenumsatzes. Auch der Quotient PYD/DPYD war bei der RA Gruppe am höchsten. Ähnlich wie zum Gesamtkollektiv (Tabelle 3) variiert das Pyridinolin der Rheumakranken signifikant zu dem gesunden Kontrollen ($p=0,033$). Osteoporosepatienten haben in dieser Altersgruppe, analog zur Gesamtanalyse einen deutlich niedrigeren Quotienten im Vergleich zu RA Patienten ($p=0,008$).

Tabelle 4: Vergleich der Crosslinkausscheidung zwischen den Kontrollkollektiven bei Frauen und Männern zwischen 55.-59. Lebensjahr

	Typ	Mittelwert	(SD)	Min.-Max.
PYD nmol/mmol Crea	gesundes Kontrollkollektiv	39,52*	(19,28)	14,00- 81,14
	Osteoporose Kontrolle	45,81	(21,69)	16,26- 123,14
	RA Patienten	61,14	(26,14)	29,28- 136,36
DPYD nmol/mmol Crea	gesundes Kontrollkollektiv	12,29	(9,72)	2,94- 40,56
	Osteoporose Kontrolle	13,47	(8,30)	4,99- 46,83
	RA Patienten	12,70	(4,56)	5,40- 22,05
PYD/DPYD	gesundes Kontrollkollektiv	4,08	(1,59)	0,48- 5,86
	Osteoporose Kontrolle	3,71*	(1,19)	1,79- 7,51
	RA Patienten	4,97	(1,54)	2,97- 9,95

gesundes Kontrollkollektiv N=12, Osteoporose Patienten N=37, RA Patienten N=21

*= Signifikanz zu RA Patienten $\alpha=0,05$

Keine signifikanten Unterschiede zeigten sich zwischen Gesunden und Patienten mit Osteoporose. Die höchsten DPYD Level fanden sich tendenziell bei Osteoporotikern und die höchsten Quotienten bei RA Patienten. Die Ergebnisse veranschaulichen die Bedeutung des PYD und des Quotienten für die RA und des DPYD für die Osteoporose.

Die Prävalenz der RA ist auch in unserer Untersuchung deutlich zugunsten des weiblichen Geschlechts. Gleichzeitig erkennt man durchweg deutlich höhere Crosslinkspiegel bei Frauen im Vergleich der Geschlechter in der Gesamtgruppe mit RA (Tabelle 5). Nicht unerheblich ist dabei die ebenfalls erhöhte Entzündungsaktivität beim weiblichen Geschlecht (BSG MW♂=11,84 vs. ♀= 20,42 $p=0,00^*$; CrP MW♂=7,93 vs. ♀=9,02 $p=0,01^*$).

Tabelle 5: Vergleich der Crosslinkausscheidung zwischen Männern und Frauen bei RA

	♂ (N=49)		♀ (N=179)		
	MW	(SD)	MW	(SD)	
Alter	60,14	(13,95)	61,09	(29,10)	
PYD (nmol/mmol Crea)	56,59	(23,01)	65,46	(29,10)	$p=0,058$
DPYD (nmol/mmol Crea)	9,39	(3,99)	12,14	(5,41)	$p=0,000^*$
PYD/DPYD	6,31	(1,79)	5,58	(1,58)	$p=0,009^*$

Mann-Whitney-U-Test asymptotische Signifikanz (2seitig) $\alpha=0,05$

Tabelle 6: Korrelationen zwischen Kollagen-Crosslinks, Alter, Erkrankungsdauer und Entzündungswerten bei RA Patienten

	Alter	Erkrankungsdauer	BSG 1h	CrP
PYD	0,341** (p=0,000)	0,149* (p=0,032)	0,294** (p=0,000)	0,232** (p=0,001)
DPYD	0,199** (p=0,003)	0,068 n.s.	0,151* (p=0,043)	0,061 n.s.
PYD/DPYD	0,201** (p=0,003)	0,088 n.s.	0,230** (p=0,002)	0,204** (p=0,005)
fPYD	0,225** (p=0,003)	0,156* (p=0,049)	0,286** (p=0,000)	0,335** (p=0,000)
fDPYD	-0,006 n.s.	0,045 n.s.	0,149 n.s.	0,251** (p=0,001)
fPYD/fDPYD	0,324** (p=0,000)	0,110 n.s.	0,188* (p=0,021)	0,136 n.s.

Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

* Die Korrelation ist auf dem Niveau $\alpha=0,05$ signifikant (zweiseitig).

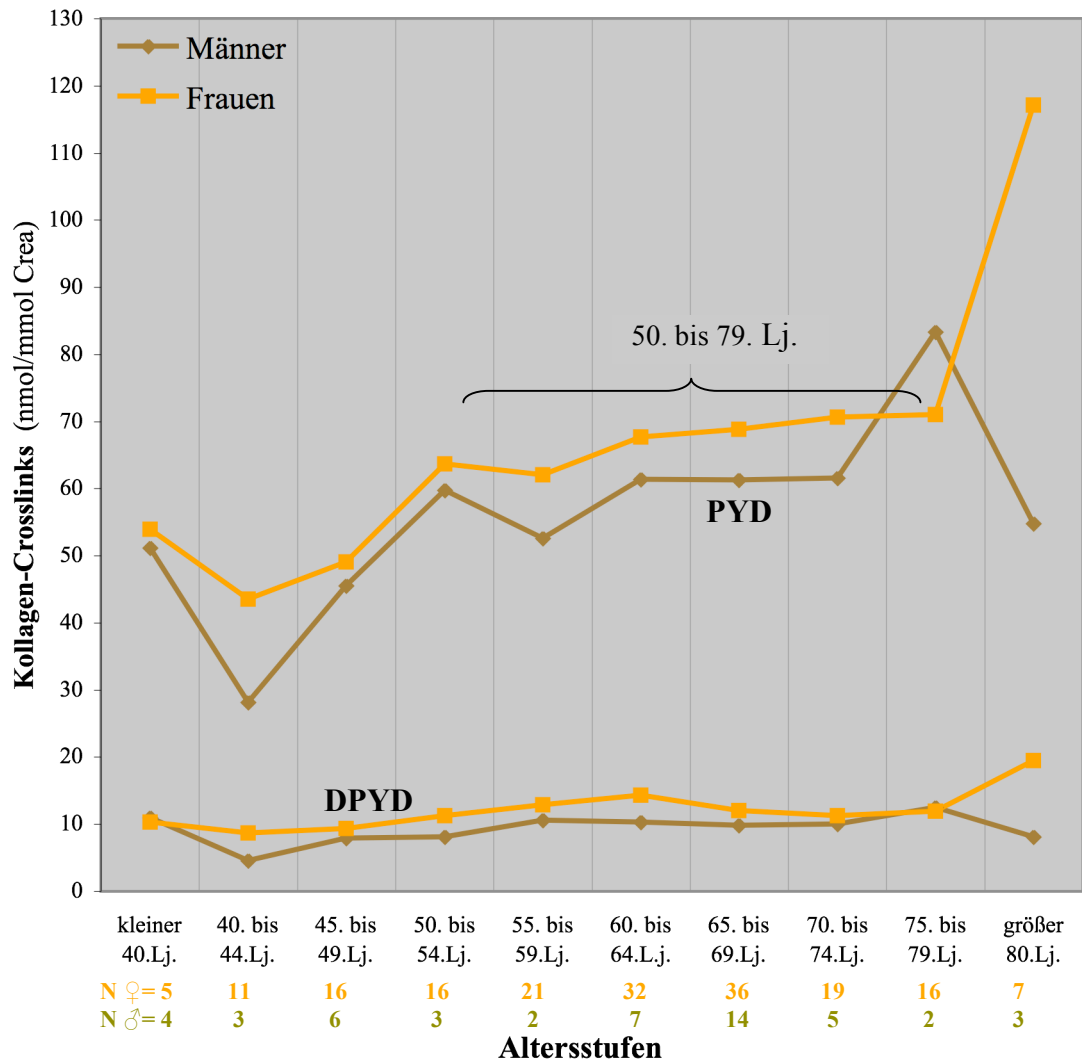
** Die Korrelation ist auf dem Niveau $\alpha=0,01$ signifikant (zweiseitig).

Die nichtparametrischen Korrelationen zeigen signifikante Zusammenhänge zwischen den Crosslinks und den Entzündungswerten BSG und CrP bei Rheuma. Hervorzuheben ist die Beziehung zwischen der phlogistischen Aktivität und dem PYD sowie dem Quotienten PYD/DPYD. Sie ist höher einzuschätzen als zu DPYD, welches nur schwach mit der BSG korreliert.

Der Korrelationskoeffizient zwischen PYD und DPYD betrug 0,734** (p=0,000), zwischen PYD und fPYD 0,844** (p=0,000) und zwischen Desoxypyridinolin und dem zugehörigen freien Pendant fDPYD 0,66** (p=0,000). Ebenfalls hochsignifikant sind die Korrelationen zu den Quotienten (PYD zu PYD/DPYD $r=0,328^{**}$ p=0,000; PYD/DPYD zu fPYD/fDPYD $r=0,664^{**}$ p=0,000; PYD/DPYD zu pPYD/pDPYD $r=0,74^{**}$ p=0,000). DPYD korreliert klar negativ zu den Quotienten PYD/DPYD ($r=-0,327^{**}$ p=0,000) und pPYD/pDPYD ($r=-0,352^{**}$ p=0,000).

Aus Tabelle 6 entnehmen wir, dass der Korrelationskoeffizient zwischen PYD und dem Alter 0,341 beträgt. Dies beschreibt etwa einen mittleren positiven Zusammenhang: je höher das Alter desto höher die Crosslinkausscheidung. Grafik 6 veranschaulicht, dass diese Verknüpfung nicht linear verläuft. Altersbedingte Veränderungen der Crosslinkspiegel sind vor allem bei den Frauen bis ins hohe Lebensalter zu sehen. Einen besonders großen Wandel der Crosslinkausscheidung erkennt man in dem Bereich der Menopause (ca. 50.Lj.). Differenziert beobachten wir den überhöhten Anstieg bei den über 80 Jährigen bei gleichzeitig nur geringer Fallzahl (N=7). Männer haben durchschnittlich 14% geringere Crosslinkspiegel.

Grafik 6: Pyridinolinausscheidung bei RA in den verschiedenen Altersgruppen nach Geschlechtern aufgetrennt



Spaltet man die Patientinnen in postmenopausale und prämenopausale Frauen auf und nimmt für diese Teilung grob das 50. Lebensjahr als Grenze, so zeigen sich bei einem Mittelwertvergleich signifikante Unterschiede in den Crosslinkleveln für PYD und DPYD. Außerdem scheint jeweils das konjugierte Pendant bei den Älteren wesentlichen Einfluss zu haben (pPYD $p=0,000^*$, pDPYD $p=0,000^*$; Mann-Whitney-U-Test; Tabelle 7).

Tabelle 7: Mittelwertvergleich bei Frauen mit RA größer und kleiner 50. Lebensjahr

	<50. LJ. (N=32)		≥ 50. LJ. (N=147)		
	MW	(SD)	MW	(SD)	
Alter (Jahre)	42,78	(6,50)	65,08	(8,17)	
BSG (mm/1h)	13,95	(7,85)	21,39	(17,31)	p=0,084
CRP (mg/l)	5,78	(5,07)	9,48	(11,12)	p=0,304
PYD (nmol/mmol Crea)	47,91	(16,22)	69,59	(29,59)	p=0,000*
DPYD (nmol/mmol Crea)	9,28	(3,46)	12,82	(5,57)	p=0,000*
PYD/DPYD	5,44	(1,45)	5,62	(1,61)	p=0,628
fPYD (nmol/mmol Crea)	26,65	(7,84)	34,27	(14,39)	p=0,011*
fDPYD (nmol/mmol Crea)	5,92	(1,57)	6,75	(2,54)	p=0,157
fPYD/fDPYD	4,55	(0,89)	5,19	(1,44)	p=0,031*
pPYD (nmol/mmol Crea)	22,62	(10,92)	35,79	(19,40)	p=0,000*
pDPYD (nmol/mmol Crea)	3,64	(2,59)	6,27	(4,23)	p=0,000*
pPYD/pDPYD	7,12	(5,71)	7,05	(4,08)	p=0,779

Für die Betrachtung der medikamentösen Unterschiede hinsichtlich der Crosslinkausscheidung ist es sinnvoll, den Einfluss anderer unabhängiger Variablen möglichst zu minimieren. Ein grundlegendes Problem vieler bisheriger Studien war die Konsistenz der Patientenauswahl unter den Rheumapatienten. Sind die Geschlechter etwa gleich verteilt, mag der Einfluss nicht groß sein, aber gerade in Grafik 6 wird der Unterschied zwischen beiden Geschlechtern auch im Hinblick auf die Altersverteilung offensichtlich. Die Differenz wird besonders in den höheren Altersgruppen immer deutlicher. Bei den Männern ist kaum ein altersbedingter Crosslinkanstieg jenseits des 50sten Lebensjahres zu sehen. Signifikante Unterschiede fanden wir insbesondere beim Vergleich zwischen prä- und postmenopausalen Frauen (Tabelle 7). Einen ähnlichen Anstieg beschrieben schon (Gough et al. 1994, Fraser und MD 1998, Kollerup et al. 1994). Durch die Ergebnisse unserer Voruntersuchungen war es uns möglich, relevante soziodemographische Wirkfaktoren bei der nun folgenden Betrachtung der medikamentösen Einflussnahme auf die Crosslinkausscheidung auszuschließen. Aufgrund der enormen Abweichungen zwischen den Geschlechtern sowie der altersabhängigen Dynamik der Crosslinkausscheidung wählten wir für unsere weiteren Untersuchungen alle Frauen mit einer rheumatoiden Arthritis zwischen dem 50. und 79. Lebensjahr. Frauen sind

wegen ihrer höheren Prävalenz der RA repräsentativer und weisen über den genannten Alterszeitraum kaum eine Dynamik der Crosslinkausscheidung auf. An diesem Klientel bewerteten wir nun die Crosslinkausscheidung unter Berücksichtigung der Pharmakotherapie. Ein niedriger Crosslinkspiegel im Urin lässt möglicherweise auf knorpel- und knochenprotektive Fähigkeiten mit vermindertem Kollagenabbau schließen. Tabelle 8 gibt einen Überblick über die demographischen Daten, die Entzündungsaktivität und Häufigkeiten der Antirheumatika und der Nebendiagnose Osteoporose in unserer ausgewählten Patientengruppe.

Tabelle 8: Daten des selektierten RA Kollektives (Frauen 50. bis 79. Lebensjahr)

N =140	Mittelwert	SD	Min.-Max.
Alter (Jahre)	64,28	7,51	50-79
Erkrankungsdauer(Jahre)	12,73	11,06	1-71
CrP (mg/l)	9,02	10,86	<3-58,5
BSG (mm/1h)	18,75	20,07	2-98
NSAR ja/nein (N)	123/17		
GK ja/nein (N)	66/74		
DMARD ja/nein (N)	131/9		
Osteoporose ja/nein (N)	70/70		

5.2. PHARMAKOLOGISCHER EINFLUSS AUF DIE CROSSLINKAUSSCHIEDUNG

In der Literatur werden verschiedene Einflussmöglichkeiten auf die Kollagen-Crosslinkausscheidung sehr kontrovers diskutiert. Viele Studien konzentrierten sich auf den Effekt bestimmter Pharmaka auf die Crosslinkausscheidung ohne Berücksichtigung der Begleitmedikation und soziodemographischer Faktoren. Da in der Rheumatherapie meist viele Medikamente gleichzeitig substituiert werden, ist eine Wechselwirkung untereinander auf das Gesamtbild der Crosslinks im Urin möglich. Die Komplexität der Einflussfaktoren ist schwer interpretierbar. Vermutlich wird jedoch der multivariate Gesamteinfluss durch Haupteffekte oder deren Summe bestimmt. So ist gerade bei unserem Patientengut die Betrachtung der einzelnen Faktoren für sich wenig realitätsnah, sondern die Berücksichtigung von Patientengruppen mit mehreren Faktoren gleichzeitig von Interesse. Mit unserem beschriebenen ausgewählten Patientenkollektiv (Auswahlkriterien ausschließlich Alter und Geschlecht) versuchten wir unerwünschte soziodemographische Faktoren zu minimieren.

Im Folgenden werden die Medikamente erst einzeln beleuchtet und danach mit Rücksicht auf relevante Wechselwirkungen mit Begleitmedikamenten dargestellt. Um die Übersicht nicht zu sprengen, demonstrieren wir zwei große Gruppen.

1. Die Interaktion Glukokortikoideinnahme (ja/nein) und NSAR (keine NSAR, ns NSAR, Coxibe).
2. Die Wechselwirkung Osteoporose (ja/nein) und Osteoporosemedikation (VitaminD+Kalzium und Bisphosphonattherapie).

Aussagen über andere Interaktionen z.B. die Wechselwirkung Glukokortikoide und Osteoporose oder Osteoporosemedikation sowie zwischen NSAR und Osteoporose wurden ebenso statistisch überprüft. Hierbei kam es jedoch entgegen unseren Vermutungen zu keinen nennenswerten Beziehungen. Zur besseren Anschauung verzichteten wir auf die gleichzeitige Betrachtung von drei und mehr unabhängigen Einflussfaktoren. Eine zu große Aufsplitterung unseres Patientenkollektives geht mit geringen Fallzahlen pro Gruppe einher und würde die Aussage stark einschränken.

Nichtsteroidale Antirheumatika und Glukokortikoide

Schwerpunkt dieser Arbeit war von Beginn an die Interpretation von Kollagen-Crosslinks im Urin bei Patienten mit den zwei erwähnten Varianten der NSAR Therapie bzw. keiner NSAR Therapie. Ein schützender Effekt auf das Knorpel- und Knochenkollagen bei RA mit geringer Crosslinkausscheidung ist indirekt über die Prostaglandinsynthesehemmung mit Drosselung der rheumatischen Entzündungsaktivität möglich. Aber auch direkte Wirkungen auf die Knorpel- und Knochenzellen könnten eine Rolle spielen.

Aus Grafik 7 entnehmen wir die dominante Präsenz von NSAR in der Rheumatherapie. Nur 12 % im selektierten RA Patientenkollektiv bekamen keine NSAR. Rund ein Drittel der RA Patientinnen im angegebenen Alter hatten selektive NSAR im Therapieschema.

Grafik 7: Prozentuale Verteilung von NSAR bei RA Patientinnen 50.- 79. Lj.

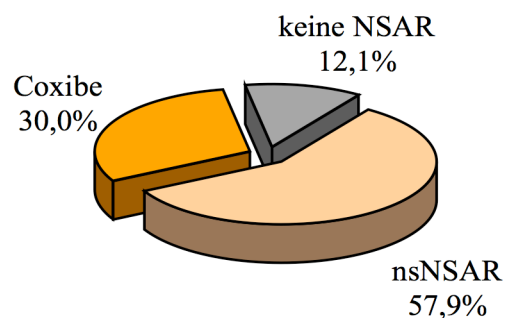
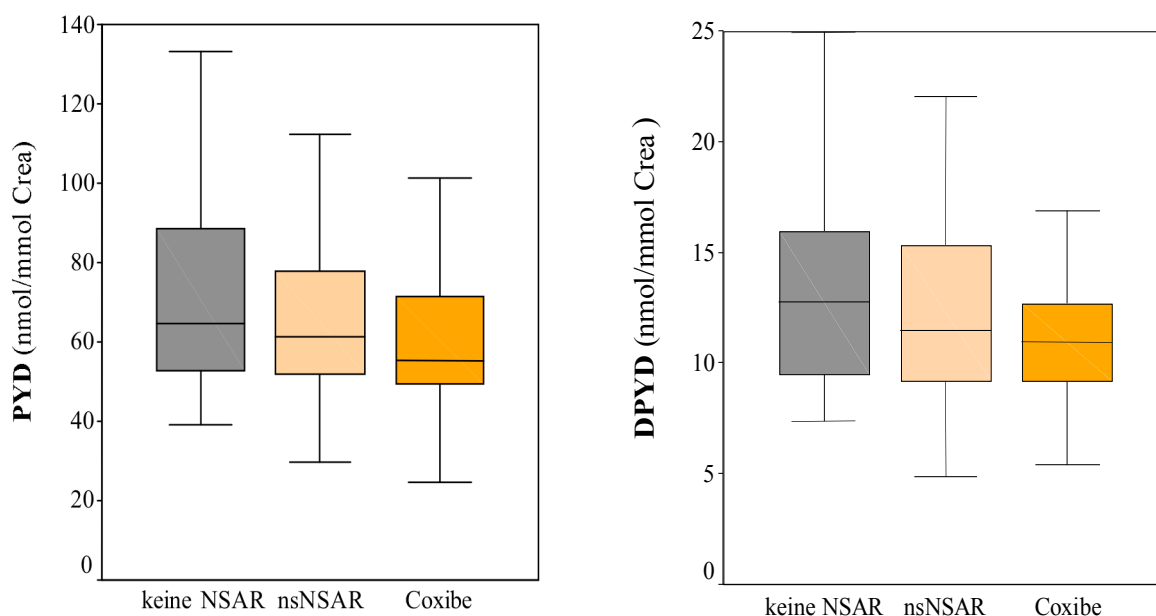


Tabelle 9: Vergleich differenter NSAR Einnahme bei RA Patientinnen 50.-79. Lebensjahr

	keine NSAR		nsNSAR		Coxibe	
	(N=17)		(N=81)		(N=42)	
	MW	(SD)	MW	(SD)	MW	(SD)
Alter (Jahre)	67,18	(8,33)	64,26	(7,35)	63,14	(7,35)
Erkrankungsdauer (Jahre)	11,00	(15,21)	13,63	(11,75)	11,34	(7,72)
BSG (mm/1h)	17,77	(12,40)	21,37	(17,63)	18,18	(12,65)
CrP (mg/l)	6,96	(8,35)	9,36	(10,88)	9,17	(11,85)
PYD (nmol/mmol Crea)	71,15	(29,74)	68,19	(24,85)	64,73	(28,09)
DPYD (nmol/mmol Crea)	13,05	(4,75)	12,45	(4,02)	12,41	(7,25)
PYD/DPYD	5,49	(1,19)	5,65	(1,59)	5,56	(1,84)
GK ja/nein (N)	9/8		31/50		26/16	
DMARD ja/nein (N)	14/3		76/5		40/2	
Osteoporose ja/nein (N)	7/10		37/44		26/16	

Bei unseren Untersuchungen fanden wir keine signifikanten Unterschiede in der Crosslinkausscheidung beim Vergleich von Patientengruppen mit unterschiedlichem NSAR Therapieschema. Tendenziell ergaben sich geringere PYD Werte bei Patienten mit NSAR gegenüber solchen ohne NSAR Therapie. Die niedrigsten PYD Level ermittelten wir bei der Gruppe mit selektiver NSAR Therapie. Rund 12% der RA Patientinnen mit Coxiben hatten niedrigere PYD Spiegel im Urin als die kleinsten PYD Werte von Patienten ohne NSAR. Desoxypyridinolin und der Quotient scheinen nahezu unbeeinflusst. Es fällt auf, dass eine simultane Glukokortikoideinnahme in der Gruppe der Coxibe prozentual überwiegt. Die Boxplots in Grafik 8 visualisieren die Häufigkeitsverteilungen mit Neigung zu geringerer Crosslinkfreisetzung unter NSAR Therapie. Sie geben einen Eindruck über die wichtigsten Eigenschaften der Verteilung. Zentrum, Streuung, Symmetrie und Schiefe sind in allen drei Gruppen ähnlich.

Grafik 8: Häufigkeitsverteilungen von PYD und DPYD bei den NSAR Gruppen

Neben NSAR sind Glukokortikoide auch in unserer Patientenauswahl ein unverzichtbares Medikament in der Therapiestrategie einer RA. Fast die Hälfte dieser Patientinnen bekamen täglich oral Steroide in niedriger Dosierung. Die mittlere Glukokortikoidmenge betrug 4,77mg/d (SD=2,2).

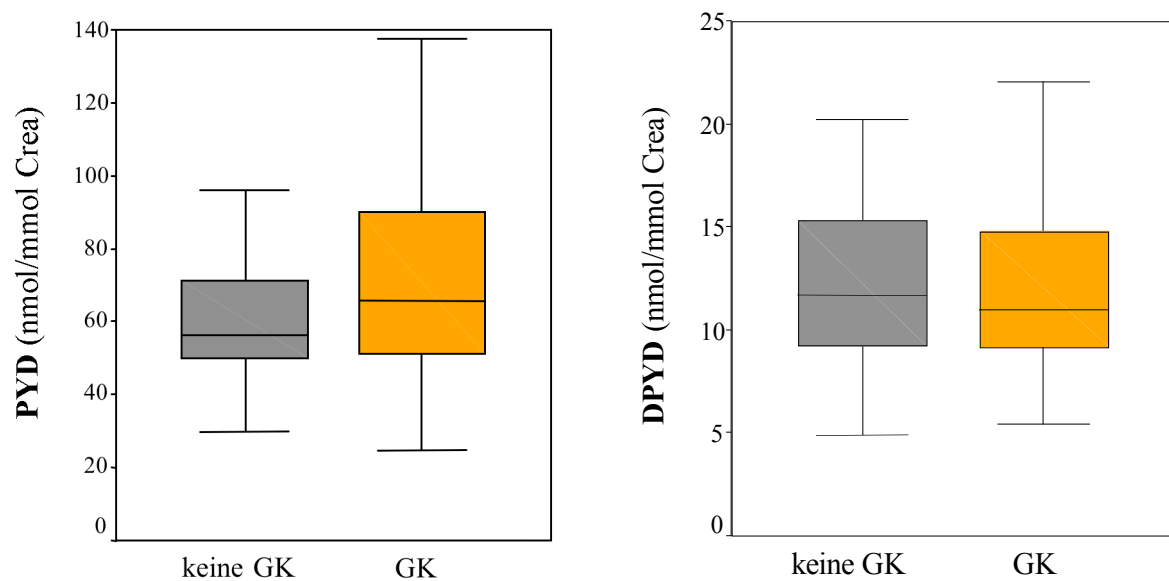
Tabelle 10: Vergleich Glukokortikoideinnahme bei RA Patientinnen 50.-79. Lebensjahr

	keine GK (N=74)		GK (N=66)		
	MW	(SD)	MW	(SD)	
Alter (Jahre)	63,12	(8,23)	65,58	(6,44)	p=0,056
Erkrankungsdauer (Jahre)	10,68	(8,51)	15,00	(13,32)	p=0,046*
BSG (mm/1h)	18,37	(16,34)	21,97	(15,12)	p=0,064
CrP (mg/l)	7,35	(10,03)	10,85	(11,51)	p=0,022*
PYD (nmol/mmol Crea)	63,68	(21,91)	71,72	(30,32)	p=0,150
DPYD (nmol/mmol Crea)	12,44	(3,87)	12,58	(6,64)	p=0,367
PYD/DPYD	5,27	(1,39)	5,98	(1,81)	p=0,019*
NSAR ja/nein	66/8		57/9		
Osteoporose ja/nein	25/49		45/21		

Die deskriptive Statistik zeigt schon sichtbare Unterschiede in der Erkrankungsdauer und der Entzündungsaktivität (CrP, BSG), welche sich im Mittelwertvergleich (Mann-

Whitney-U-Test) auch signifikant darstellen. Alle Parameter in Tabelle 10 (Durchschnittsalter, mittlere Erkrankungsdauer, BSG, CrP, PYD, DPYD und PYD/DPYD) waren unter Glukokortikoidtherapie höher. Bei den Kollagen-Crosslinks gab es für PYD und DPYD nur tendenziell Differenzen. Der Quotient PYD/DPYD unterscheidet sich signifikant mit leicht höheren Werten unter Glukokortikoidtherapie. Anzumerken ist, dass unter Steroidtherapie etwa 68% der Rheumatiker eine Begleitosteoporose hatten. Während dies in der Vergleichsgruppe nur 34% waren.

Grafik 9: Häufigkeiten keine GK versus GK bei RA Patientinnen (50.-79. Lebensjahr)



Patienten in den Gruppen differenter NSAR Therapien und der Glukokortikoidtherapie unterschieden sich jeweils kaum in der Kollagenausscheidung. Lediglich der Trend zu niedrigeren PYD Werten unter NSAR, v.a. unter Coxiben, und höheren PYD Werten unter Steroiden lassen den Verdacht auf einen leichten Vorteil der NSAR und ein höheres Osteoporoserisiko bei Steroiden aufkommen. Aus Tabelle 9 entnehmen wir, dass die GK Einnahme in den Untergruppen der differenten NSAR Therapie ungleichmäßig verteilt ist. Aus diesem Grund, und aus dem Wissen möglicher pathophysiologischen Überschneidungen heraus, beschreiben wir nun im Folgenden die Crosslinkausscheidung bei differenter NSAR Therapie unter Berücksichtigung einer Glukokortikoideinnahme. Dabei erfolgte die Beobachtung von Wechselwirkungen innerhalb der Kombinationstherapien durch eine univariate, zweifaktorielle Varianzanalyse.

Tabelle 11: Deskriptive Statistik der Variable PYD (nmol/mmol Crea) nach Auftrennung in NSAR- und Glukokortikoidtherapie bei RA Patientinnen 50.-79. Lebensjahr

	NSAR Gruppe	PYD(MW)	(SD)	N	Osteoporose ja/nein
keine GK	keine NSAR	85,47	(33,18)	7	2/5
	nsNSAR	64,77	(20,68)	47	15/32
	Coxibe	50,97	(7,67)	16	5/11
GK	keine NSAR	56,83	(18,34)	7	3/4
	nsNSAR	74,15	(30,31)	27	17/10
	Coxibe	73,20	(32,60)	26	21/5

In der univariaten Varianzanalyse ergibt sich eine signifikante Wechselwirkung in der Kombinationsgruppe NSAR und Glukokortikoide mit einer sogenannten „Overall“ Signifikanz von $p=0,007$. Beim Post-Hoc Mehrfachvergleich mittels Tamhane-T2 Test zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen selektiven und nichtselektiven NSAR bei Patienten ohne gleichzeitige Glukokortikoideinnahme ($p=0,001$). Die PYD Level sind bei den spezifischen COX2-Hemmern deutlich niedriger. Auch entgeht der Unterschied zwischen Patienten, die Coxibe einnehmen und Patienten die keine NSAR verschrieben bekamen nur knapp einer Signifikanz ($p=0,096$). Ursache hierfür kann die geringe Fallzahl bei Patienten ohne NSAR sein. Wir können schlussfolgern, dass der Einfluss der NSAR vor allem in der Gruppe ohne Steroide deutlich wird.

Bisher haben wir nur Aussagen machen können, wie sich eine NSAR Einnahme bei täglicher Steroidsubstitution bzw. Nichteinnahme auf die Crosslinkausscheidung verhält. Betrachten wir die Glukokortikoideinnahme bei den jeweils drei verschiedenen NSAR Gruppen, ist schon in der Gruppenstatistik für PYD (Tabelle 11) der Trend zu höheren Werten unter Glukokortikoiden erkennbar. Paradox erscheint er in der Gruppe ohne NSAR, ist aber nicht signifikant und aufgrund geringer Fallzahl ($N=7$) kritisch zu werten. Gleich sind die Effekte für die unselektiven COX-Hemmer und die Coxibe mit höheren Crosslinks unter Glukokortikoideinnahme. Für die Gruppe der Coxibe ist dies sogar signifikant ($p=0,005$) (Tabelle 12, Grafik 10).

Tabelle 12: Deskriptive Statistik im Überblick NSAR-GK bei RA Patientinnen 50. bis 79. Lj.

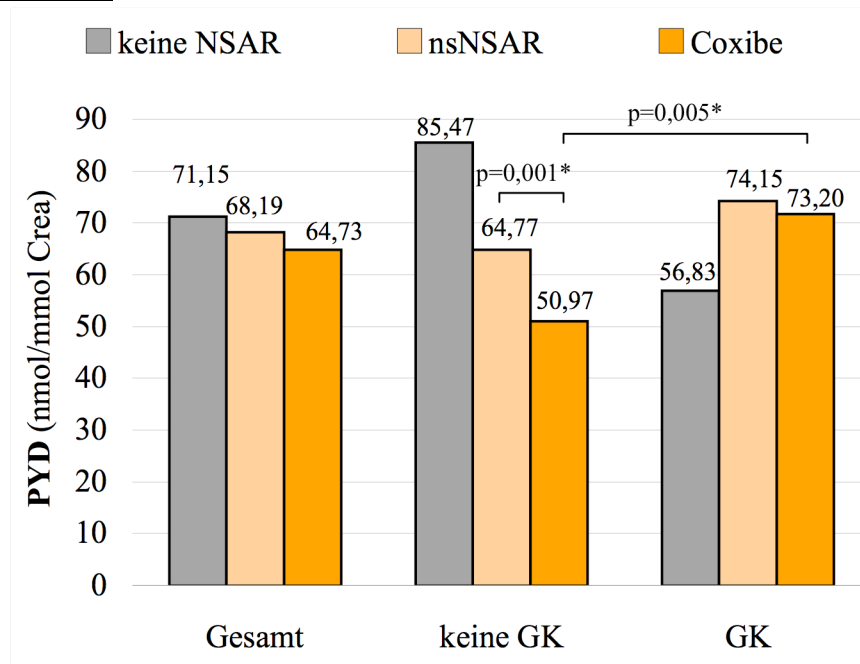
	keine NSAR	nsNSAR	Coxibe
keine GK	MW (SD)	MW(SD)	MW(SD)
Alter (Jahre)	67,25 (10,01)	63,76 (7,99)	59,06 (6,75)
BSG1h	14,00 (11,25)	20,31 (18,31)	13,14 (6,97)
CRP	5,00 (3,38)	8,63 (11,66)	4,04 (2,32)
PYD	85,47 (33,18)	64,77 (20,68) ^{*(p=0,001)}	50,97 (7,67) ^{** (p=0,005)}
DPYD	14,67 (5,79)	12,48 (3,86)	11,37 (2,46)
PYD/DPYD	5,97 (1,20)	5,39 (1,48)	4,62 (0,93) ^{** (p=0,008)}
fPYD	36,07 (10,48)	32,03 (9,79) ^{*(p=0,01)}	25,58 (5,57) ^{** (p=0,029)}
fDPYD	6,54 (1,48)	6,77 (1,86)	6,11 (1,70)
fPYD/fDPYD	5,46 (0,69)	4,87 (1,26)	4,33 (0,93)
pPYD	47,33 (25,96)	34,92 (15,09) ^{*(p=0,001)}	23,91 (5,55) ^{** (p=0,04)}
pDPYD	7,84 (5,02)	6,31 (3,02)	5,02 (2,74)
pPYD/pDPYD	6,87 (2,77)	6,47 (3,60)	6,86 (6,31)
mit GK			
Alter (Jahre)	67,11 (7,15)	65,06 (6,21)	65,65 (6,64)
BSG1h	20,13 (13,23)	23,17 (16,56)	21,13 (14,33)
CRP	8,49 (10,77)	10,56 (9,54)	12,04 (13,98)
PYD	56,83 (18,34)	74,15 (30,31)	73,20 (32,60)
DPYD	11,44 (3,06)	12,41 (4,36)	13,06 (9,03)
PYD/DPYD	5,01 (1,05)	6,09 (1,71)	6,14 (2,03)
fPYD	27,16 (10,13)	38,34 (15,29)	38,04 (19,98)
fDPYD	5,73 (1,67)	6,92 (2,72)	7,03 (3,49)
fPYD/fDPYD	4,70 (0,79)	5,78 (1,78)	5,47 (1,54)
pPYD	29,88 (11,82)	35,79 (19,06)	33,93 (15,81)
pDPYD	5,58 (2,58)	5,60 (3,34)	6,15 (6,51)
pPYD/pDPYD	5,59 (1,37)	7,52 (3,35)	8,37 (5,11)

Nach Overall Signifikanz mit Varianzanalysen PYD $p=0,007$, PYD/DPYD $p=0,043$, fPYD $p=0,028$, pPYD $p=0,028$, (Mehrfachvergleiche mittels Kruskal-Wallis innerhalb der Gruppen PYD=0,002, PYD/DPYD $p=0,034$, fPYD $p=0,026$, pPYD $p=0,005$) erfolgte mit Varianzanalysen eine Post-Hoc Untersuchung und Mann-Whitney-U-Tests zur Ermittlung der genauen Unterschiede

* Signifikanz zu Coxiben

** Signifikanz zum Pendant mit GK

fPYD/fDPYD entging nur knapp einen signifikanten Unterschied bei der Varianzanalyse ($p=0,051$).

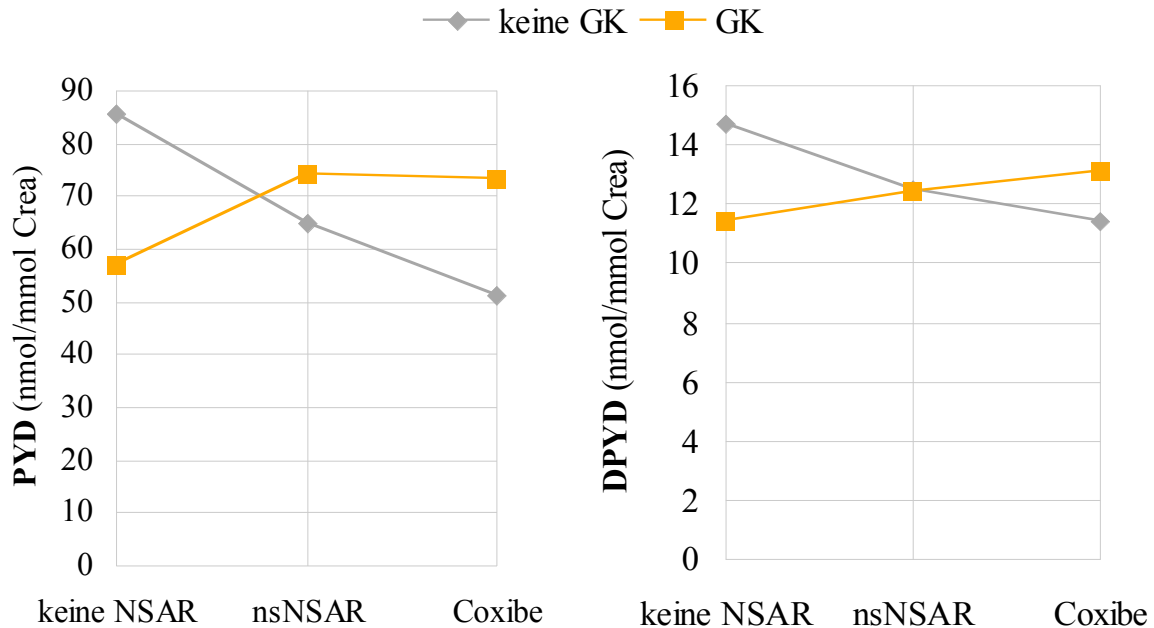
Grafik 10: NSAR–Glukokortikoid-Interaktion bei RA Patientinnen für PYD

Zwischen NSAR und Steroidtherapie existieren signifikante Wechselwirkungen bei PYD und den Untergruppen fPYD, pPYD und den Quotienten PYD/DPYD, nicht jedoch für DPYD. Anhand der Balkendiagramme (Grafik 10) erkennt man eine deutliche Crosslinksenkung in der Gruppe ohne simultane GK Therapie. 75% der Patienten ohne GK, aber mit Coxiben haben niedrigere PYD Spiegel im Urin als Patienten ohne NSAR und GK. Dieses Phänomen finden wir für jede einzelne Untergruppe für PYD, dominierend aber für pPYD. Einen positiven Effekt auf den Kollagenabbau durch unspezifische und noch mehr durch spezifische COX2-Hemmer registrieren wir vor allem bei Patienten ohne gleichzeitige Glukokortikoidtherapie. Zwischen nsNSAR und Coxiben ist dabei die Differenz signifikant. Gegenüber Patienten ohne NSAR Einnahme ist dies auch zumindest tendenziell sichtbar, aber wahrscheinlich aufgrund geringerer Fallzahlen nicht signifikant. GK Therapie mit simultaner NSAR Therapie bei RA Patienten ist vermutlich mit höherer Crosslinkausscheidung assoziiert.

Die inhaltliche Aussage der eben beschriebenen Interaktion NSAR-GK kann eindeutiger anhand von Interaktionsdiagrammen mit Hilfe der geschätzten Randmittel visualisiert werden (Grafik 11). Die Interaktion besteht in der gegensätzlichen Steigung der Linien. Da sich in beiden Diagrammen schneidende Linien befinden, handelt es sich um eine disordinale Interaktion. Das heißt, die deutlich divergierenden Linienzüge in beiden Abbildungen verdeutlichen, dass beide Haupteffekte (NSAR und GK Einnahme) für sich genommen inhaltlich bedeutungslos sind. Die Unterschiede zwischen der differenten

NSAR Einnahme sind nur unter gleichzeitiger Beachtung der Steroidtherapie sinnvoll interpretierbar. Die Wechselwirkung kennzeichnet, dass die Kombination einzelner Faktoren mit einer eigenständigen Wirkung verbunden ist. Eine generalisierte Aussage kann nicht getroffen werden.

Grafik 11: Interaktionsdiagramme NSAR-GK für PYD und DPYD bei RA Pat. 50.-79. Lj.



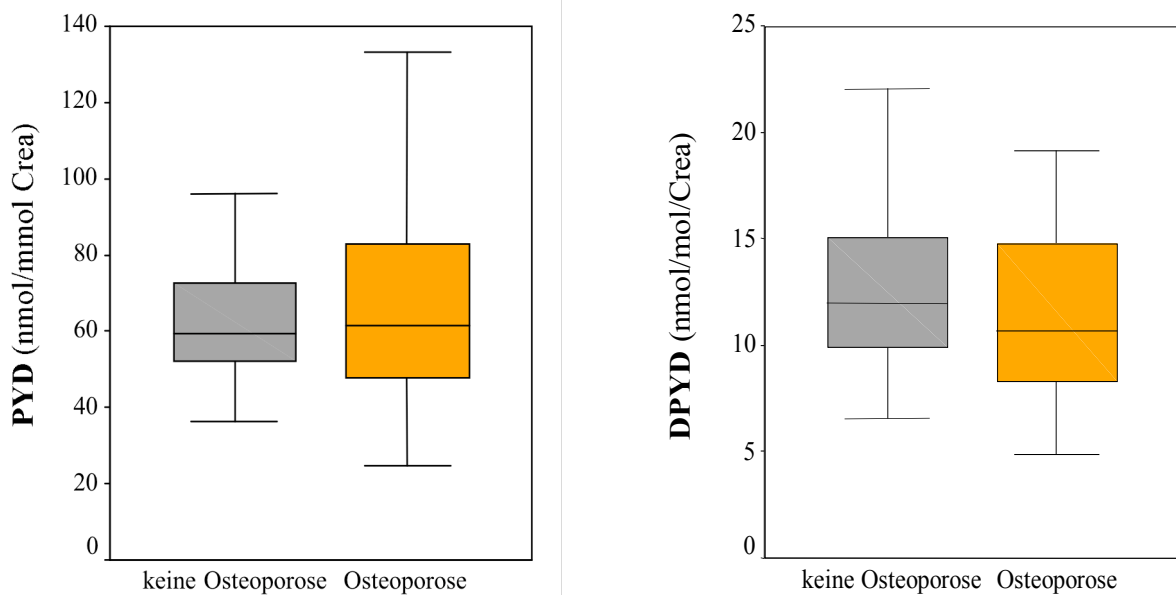
Eine Substitution von NSAR führt möglicherweise in Abhängigkeit von der gleichzeitigen GK Einnahme zu gegensätzlichen Effekten hinsichtlich der Kollagen-Crosslinks im Urin. Ohne Steroide nimmt die Kollagen-Crosslinkausscheidung unter nsNSAR und Coxiben ab (für PYD signifikant). Patienten mit bzw. ohne GK reagieren unterschiedlich innerhalb der drei NSAR Subgruppen.

Osteoporose und Osteoporosemedikation

Aus der Einleitung entnehmen wir, dass eine Begleitosteoporose als sekundäre Pathologie bei RA eine bedeutende Rolle spielt. In unserem selektierten Patientengut wird deren Prävalenz zusätzlich durch die postmenopausale Hormonverschiebung verstärkt. 50% der Patientinnen haben eine, mit Hilfe der DEXA-Methode diagnostizierte, generalisierte Osteopenie oder Osteoporose (nach WHO-Kriterien).

Tabelle 13: Vergleich keine Osteoporose vs. Osteoporose bei RA Patientinnen 50.-79. Lj.

	keine Osteoporose (N=70)		Osteoporose (N=70)		
	MW	(SD)	MW	(SD)	
Alter (Jahre)	62,71	(8,03)	65,84	(6,65)	p=0,010*
Erkrankungsdauer (Jahre)	9,75	(7,81)	15,65	(12,92)	p=0,003*
BSG (mm/1h)	19,94	(17,07)	20,20	(14,57)	
CrP (mg/l)	9,16	(11,87)	8,88	(9,84)	
PYD (nmol/mmol Crea)	66,71	(24,95)	68,12	(27,91)	
DPYD (nmol/mmol Crea)	13,09	(5,39)	11,88	(5,18)	p=0,063
PYD/DPYD	5,25	(1,27)	5,98	(1,88)	p=0,054
Glukokortikoide ja/nein (N)	21/49		45/25		

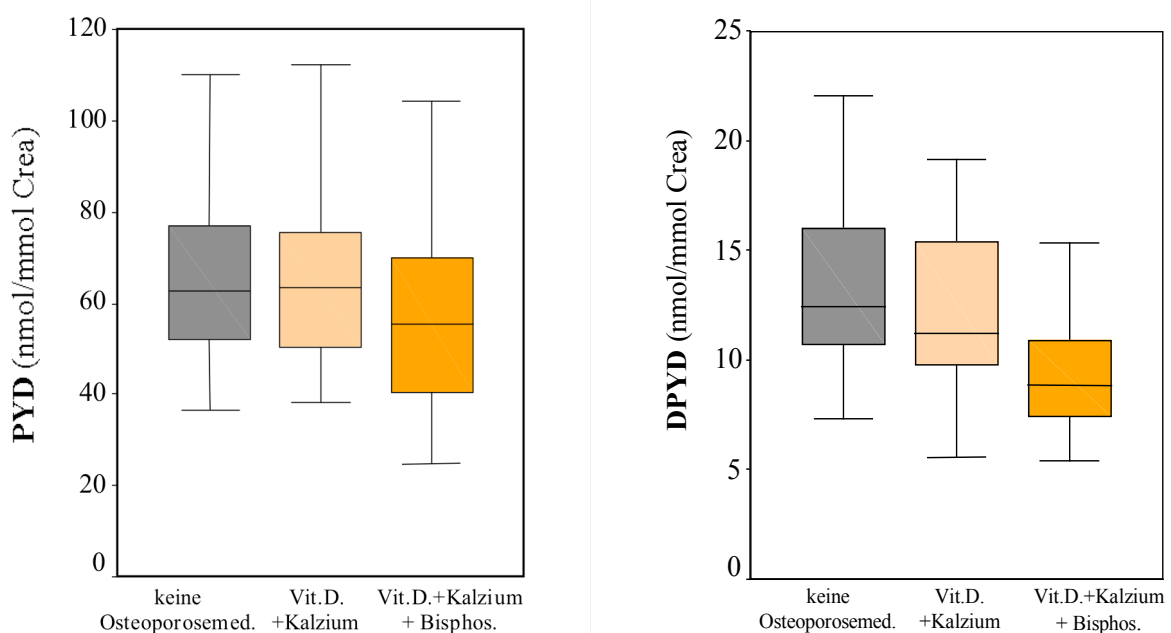
Grafik 12: Vergleich RA Patientinnen ohne Osteoporose vs. mit Begleitosteoporose PYD und DPYD

Zur Verifizierung der Einflussfaktoren Osteoporose und Osteoporosemedikation testeten wir erst die beiden Gruppen einzeln auf Mittelwertunterschiede und führten ebenso Post-Hoc Varianzanalysen mit Begleitmedikamenten durch. Aus Tabelle 13 entnehmen wir eine recht gleichmäßige Verteilung zwischen RA Patientinnen mit und ohne Knochenmasseverlust. Lediglich die Gruppe der Patienten mit Osteoporose weist in unserem Krankengut signifikant höhere Erkrankungsdauer und Lebensalter auf gegenüber der Vergleichsgruppe (p=0,003* bzw. p=0,01*; Mann-Whitney-U-Test).

Tabelle 14: Vergleich Osteoporosemedikation bei RA Patientinnen 50.-79. Lebensjahr

	keine Osteopo- rosemed.		VitaminD+ Kalzium		Vit.D+Kalzium+ Bisphosphonate	
	MW	(SD)	MW	(SD)	MW	(SD)
Alter (Jahre)	64,26	(6,59)	66,54	(6,41)	67,78	(5,75)
Erkrankungsdauer (Jahre)	9,58	(6,67)	13,78	(13,06)	14,69	(11,89)
BSG (mm/1h)	17,05	(16,72)	22,60	(16,97)	20,76	(14,79)
CrP (mg/l)	7,58	(11,24)	11,08	(11,85)	9,30	(11,26)
PYD (nmol/mmol Crea)	68,37	(24,29)	71,99	(30,79)	56,47	(20,68)
DPYD (nmol/mmol Crea)	13,60	(4,05)	13,37	(7,22)	9,67	(3,31)
PYD/DPYD	5,49	(1,19)	5,65	(1,59)	5,99	(2,02)
GK ja/nein (N)	14/29		26/19		18/8	
DMARD ja/nein (N)	38/5		43/2		24/2	
Osteoporose ja/nein (N)	5/38		27/18		26/-	

Bei Auftrennung der Patienten mit verschiedener Osteoporosemedikation in drei Gruppen (keine Osteoporosetherapie, nur Vitamin D+Kalzium und die Kombination Vitamin D+Kalzium+Bisphosphonate) konnten wir mit dem Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben keine relevanten Unterschiede für PYD, DPYD und den Quotienten PYD/DPYD finden (Tabelle 14, Grafik 13).

Grafik 13: Vergleich der RA Patientinnen hinsichtlich Osteoporoseprophylaxe bzw. -therapie

Es ist bekannt, dass eine hohe entzündliche Krankheitsaktivität bei RA Patienten mit einem verminderten endogenen Vitamin D Spiegel einhergeht und letztendlich in negativer Knochenbilanz bei erhöhtem Knochenabbau und verminderter Knochenneubildung resultiert (Oelzner et al. 1998). Hein et al. machten auf den antiinflammatorischen Einfluss des Vitamin D₃ aufmerksam, welches so dem verstärkten Kollagenabbau entgegenwirkt (Hein und Oelzner 2000). Aus diesem Grunde beleuchteten wir die Crosslinkausscheidung bei Patienten mit verschiedenen Osteoporosemedikamenten im Kontext einer Osteoporoseerkrankung der RA Patienten und antirheumatischer Begleitmedikation. Hierbei zeigten sich weder mit NSAR noch mit Glukokortikoiden relevante Wechselwirkungen. Gerade in der Verbindung mit gleichzeitiger Steroideinnahme vermuteten wir statistische Zusammenhänge bei der Crosslinkausscheidung. Erklärung findet dies eventuell in der breiten medikamentösen Gegenregulation mit VitaminD+Kalzium und Bisphosphonaten bei bekannter Osteoporose bzw. simultaner Glukokortikoidtherapie. Bei Frauen zwischen dem 50. und 79. Lebensjahr nahmen 47% Steroide und 50% hatten einen nachgewiesenen Knochenmasseverlust. Patienten mit Osteoporose hatten im Durchschnitt 35% mehr Glukokortikoide im Therapieschema als Patienten ohne Osteoporose. Rund 77% der Patienten mit Steroidtherapie bekamen simultan eine Osteoporoseprophylaxe mit Vitamin D und Kalzium. Die DVO, die DGRh und die AWMF empfehlen gerade bei Neubeginn einer Steroidtherapie diese prophylaktische Gabe.

Wechselbeziehungen konnten wir nur zwischen Osteoporoseerkrankung und Osteoporosemedikation bei DPYD mit einer Overall Signifikanz von $p=0,032^*$ belegen.

Tabelle 15: Deskriptive Statistik der Variable PYD (nmol/mmol Crea) nach Auftrennung in Osteoporose und Osteoporosemedikation bei RA Patientinnen 50.-79. Lebensjahr

	Osteoporosemedikamente	PYD (MW)	(SD)	N
keine Osteoporose	keine	66,32	(23,04)	38
	Vit.D+Kalzium	73,46	(34,03)	18
Osteoporose	keine	83,59	(30,77)	5
	Vit.D+Kalzium	70,99	(29,07)	27
	Vit.D+Kalzium+Bisphos.	56,37	(20,68)	26

Tabelle 16: Deskriptive Statistik der Variable DPYD (nmol/mmol Crea) nach Auftrennung in Osteoporose und Osteoporosemedikation bei RA Patientinnen 50.-79. Lebensjahr

Osteoporosemedikamente		DPYD(MW)	(SD)	N
kein Osteoporose	Keine	13,06	(3,72)	38
	Vit.D+Kalzium	14,57	(8,93)	18
Osteoporose	keine	17,66	(4,52)	5
	Vit.D+Kalzium	12,55	(5,84)	27
	Vit.D+Kalzium+Bisphos.	9,67	(3,31)	26

Die Auswertungen der beiden Tabellen ergaben, dass Osteoporosemedikamente wie Vitamin D₃ und Kalzium die Crosslinkausscheidung bei Osteoporosepatienten senken können. Noch eindrucksvoller ist der Unterschied bei gleichzeitiger Bisphosphonattherapie (Grafik14). Bei Patienten ohne nachgewiesenen Knochenmasseverlust scheint die Vitamin- und Kalziumsubstitution gegenüber Patienten ohne Osteoporosemedikamente keinen sonderlichen Einfluss auf die Kollagen- Crosslinkfreisetzung zu haben. Bei diesem Vergleich verhalten sich die freien und peptidgebundenen Fraktionen für PYD und DPYD ähnlich. In dieser Gruppe gab es keine Patienten die „prophylaktisch“, d.h. zur Vorbeugung einer Osteoporose eine Bisphosphonattherapie erhielten.

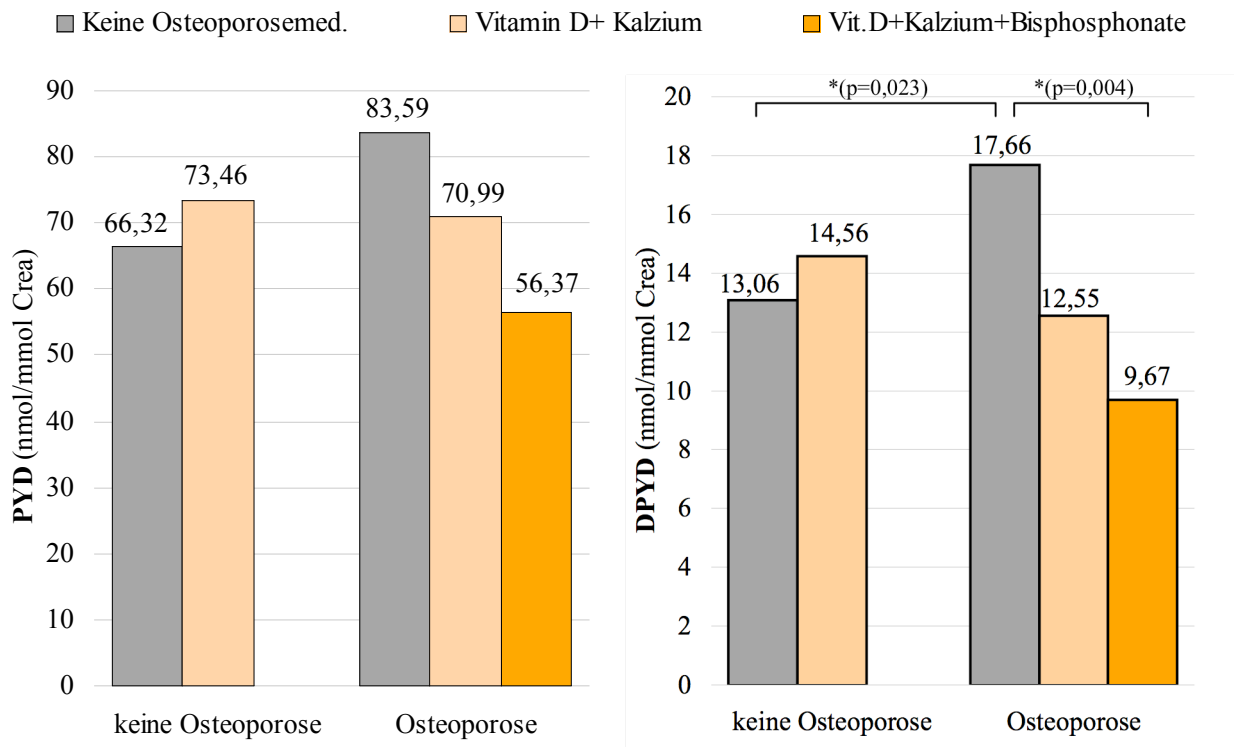
Tabelle 17: Deskriptive Statistik im Überblick Osteoporose- Osteoporosemedikamente bei RA Patientinnen 50. bis 79. Lebensjahr

	keine Osteoporosemed.		VitaminD+ Kalzium		Vit.D/Kalzium+ Bisphosphonate	
Keine Osteoporose	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Alter	64,29	(6,44)	66,28	(7,77)		
BSG 1h	17,37	(17,52)	25,12	(18,66)		
CrP	7,76	(11,72)	13,59	(14,20)		
PYD	66,32	(23,04)	73,45	(34,03)		
DPYD	13,06	(3,72) ^{*(p=0,023)}	14,56	(8,93)		
PYD/DPYD	5,16	(1,21)	5,35	(1,44)		
freiePYD	31,81	(11,54)	37,36	(16,75)		
freie DPYD	6,73	(1,89)	7,42	(3,32)		
fPYD/fDPYD	4,76	(1,07)	5,26	(1,63)		
peptidPYD	35,57	(16,46)	35,81	(19,31)		
peptidDPYD	6,73	(3,34) ^{*(p=0,035)}	7,01	(5,97)		
pPYD/pDPYD	6,02	(2,51)	6,05	(2,57)		
Osteoporose						
Alter	64,00	(8,54)	66,71	(5,51)	67,78	(5,75)
BSG 1h	14,60	(9,34)	20,96	(15,94)	20,76	(14,79)
CrP	6,24	(7,24)	9,41	(9,93)	9,30	(11,26)
PYD	83,59	(30,77)	70,99	(29,07)	56,37	(20,68)
DPYD	17,66	(4,52) ^{** (p=0,04)}	12,55	(5,84)	9,67	(3,31)
PYD/DPYD	4,72	(1,04)	5,87	(1,73)	6,00	(2,02)
freiePYD	32,05	(11,80)	38,37	(15,49)	29,26	(10,02)
freie DPYD	6,63	(1,13)	6,99	(2,69)	5,53	(1,67)
fPYD/fDPYD	4,75	(1,24)	5,57	(1,25)	5,51	(1,92)
peptidPYD	51,54	(19,33)	34,27	(16,99)	27,70	(13,48)
peptidDPYD	11,02	(4,18)	5,86	(4,10)	4,26	(2,80)
pPYD/pDPYD	4,93	(1,49)	7,09	(3,81)	7,89	(4,15)

Nachweis der Wechselwirkung durch Varianzanalyse mit Test der Zwischensubjekteffekte (Overall Signifikanz DPYD p=0,032, pDPYD p=0,02)

* Signifikanz zum Pendant mit Osteoporose (Mann-Whitney-U-Test)

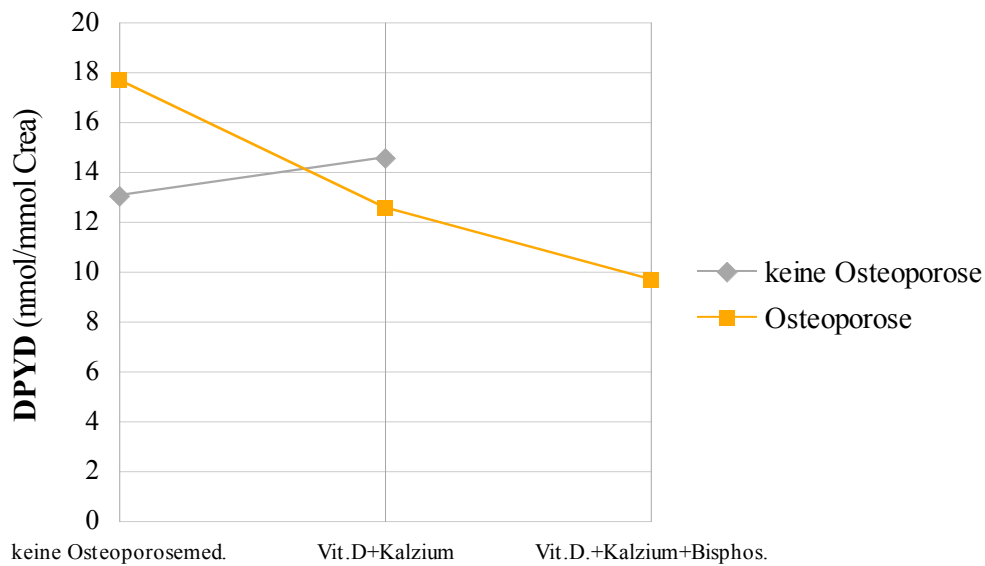
** Signifikanz zur Gruppe mit VitaminD+Kalzium und Bisphosphonattherapie (Post-Hoc Varianzanalyse)

Grafik 14: Osteop.-Osteoporosemed. Interaktion bei PYD und DPYD bei RA Patientinnen

Deutlich wird der protektive Effekt von VitaminD+Kalzium und den Bisphosphonaten bei Osteoporotikern vor allem bei DPYD (Grafik14+15) und in der peptidgebundenen Untergruppe (Tabelle 17). Eine kombinierte Vitamin D+Kalzium und Bisphosphonattherapie bei Patienten mit Osteoporose ist in unserer Untersuchung mit einer signifikant niedrigeren Kollagen-Crosslinkausscheidung im Urin assoziiert gegenüber der Vergleichsgruppe ohne Osteoporosemedikamente.

In der Patientengruppe ohne Osteoporosemedikation wird bei den Osteoporotikern signifikant mehr DPYD und pDPYD ausgeschieden. Dies reflektiert die Angriffspunkte am Knochenstoffwechsel, die bei Osteoporose und der Osteoporosemedikation zu erwarten sind. Die univariaten Varianzanalysen für PYD, PYD/DPYD, fPYD, fDPYD, fPYD/fDPYD, pPYD, pPYD/pDPYD ergaben richtungsweisende, aber keine signifikanten Unterschiede und Wechselwirkungen hinsichtlich der Diagnose Osteoporose und Osteoporosemedikation. Der Trend für PYD ähnelt dem von DPYD. Dies ist von Bedeutung für die Bewertung der Kollagencrosslinks, insbesondere PYD und des Quotienten bei RA Patienten.

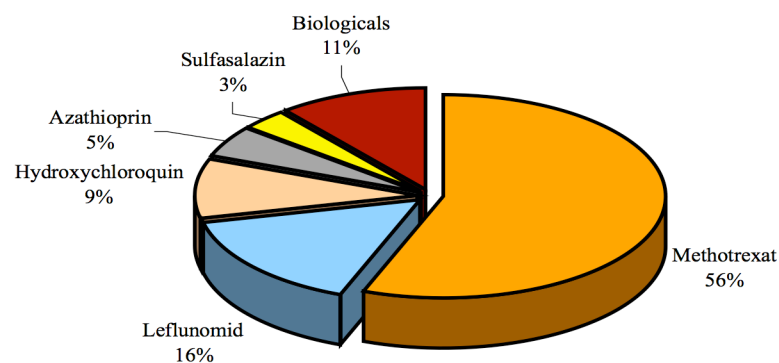
Grafik 15: Interaktionsdiagramm Osteoporose-Osteoporosemedikamente für DPYD (nmol/mmol Crea) bei RA Patientinnen 50.-79. Lebensjahr



Basistherapeutika versus Methotrexat

Die Beschreibung der Relevanz von Basistherapeutika auf die Crosslinkausscheidung ist sehr schwierig. Zum einen ist der Wirkmechanismus meist unbekannt oder spekulativ und zum anderen besteht eine Vielzahl von verschiedensten Basistherapeutika mit individuell unterschiedlichem Ansprechen der Patienten auf die Medikation. Das bedeutsamste Medikament dieser Gruppe ist Methotrexat. So erhielten dies auch in unserer Studie mehr als die Hälfte der Patienten. Etwa 6,6% hatten eine Kombinationstherapie bestehend aus MTX und Biologicals. Rund sechs von 228 RA Patienten erhielten zum Methotrexat zusätzlich Leflunomid. Die Kombination MTX und Sulfasalazin bekamen nur vier Patienten.

Grafik 16: Häufigkeiten der Verordnungen von Basistherapeutika im RA Gesamtkollektiv (N=228, Prozente inklusive Kombinationspräparate)

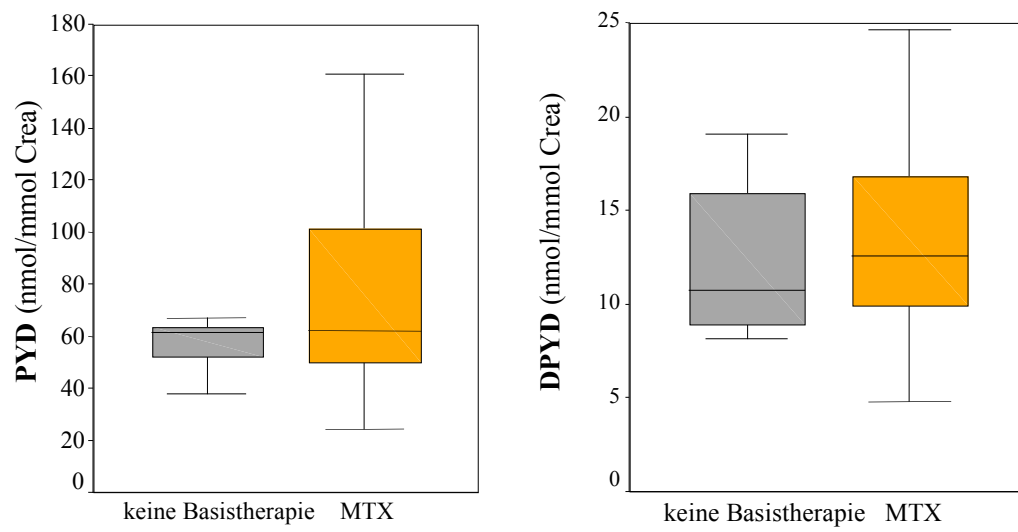


Um dennoch eine Aussage treffen zu können, versuchten wir aus unserem Patientenkollektiv den Patienten, die keine Basistherapeutika bekamen (kleiner als 10%) in Alterstufen, Geschlecht, NSAR- und Glukokortikoideinnahme „gematchte“ Probanden mit Methotrexat als Basistherapie gegenüberzustellen. Insgesamt ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Nur tendenziell zeigten sich leicht höhere Crosslinkausscheidungen unter MTX. Diese waren bei PYD und DPYD zu sehen, während der Quotient PYD/DPYD annähernd gleich blieb, wobei die niedrige Fahlzahl von 22 Probanden die Aussagekraft einschränken lässt. Theoretisch bestätigt dies eine Tendenz zu einer erhöhten Knochenresorption, wie sie schon in anderen Studien vermutet wurde. Das kann jedoch auch an einer stärkeren Krankheitsaktivität bei den mit MTX behandelten Patienten liegen.

Tabelle 18: Vergleich keine Basismedikamente versus Methotrexat (N=22)

	keine Basismedikamente		Methotrexat	
	MW	(SD)	MW	(SD)
Erkrankungsdauer	15,30	(12,07)	7,67	(2,92)
BSG (mm/1h)	19,25	(13,01)	23,89	(13,92)
CrP (mg/l)	9,02	(8,42)	11,57	(16,91)
PYD (nmol/mmol Crea)	60,81	(19,61)	77,23	(41,79)
DPYD (nmol/mmol Crea)	12,61	(4,42)	16,11	(12,05)
PYD/DPYD	5,01	(1,27)	5,29	(1,43)
Osteoporose ja/nein	4/7		4/7	

Das Patientenalter betrug für beide Kollektive durchschnittlich rund 61 Lebensjahre. In der MTX Gruppe war die Erkrankungsdauer zum Abnahmezeitpunkt deutlich niedriger und die Entzündungsaktivität etwas höher (Tabelle 18). Im Gegensatz zu der positiven Korrelation der Erkrankungsdauer mit dem Pyridinolin im Gesamtkollektiv der RA Patienten (Tab. 6) finden wir hier in der MTX Gruppe eine deutlich geringere Erkrankungsdauer aber höhere Crosslinkwerte gegenüber der Vergleichsgruppe.

Grafik 17 : Gegenüberstellung RA Patienten ohne Basismedikamente vs. mit Methotrexat

6. DISKUSSION

Zur Erfassung der Knorpel- und Knochendestruktion einer rheumatoiden Arthritis bildet die Messung von Kollagen-Crosslinks im Urin eine wissenschaftlich anerkannte Bewertungsgrundlage. Bei noch nicht erschöpfter Knorpel- und Knochenmatrix am Gelenk ist die Ausscheidung von Kollagen-Crosslinks im Urin umso höher, je stärker der Krankheitsprozess ist. Eine Senkung dieses Abbaumarkers wäre demnach von positivem Wert und lässt auf knorpel- bzw. knochenprotektive Wirkung schließen. Die Therapie der RA besteht meist aus einer Kombination von Medikamenten verschiedener Wirkstoffgruppen. Neben der Reduktion der Entzündungsaktivität und der subjektiven Beschwerdesymptomatik ist ein Einfluss auf den Kollagenstoffwechsel durchaus nahe liegend. Eine Querschnittsmessung der Crosslinklevel im Urin bildet jedoch nur ein Summationsbild von Einflussfaktoren, bestehend aus Variablen, die einen Effekt auf den Knorpel- und Knochenstoffwechsel haben könnten. Medikamente und soziodemographische Faktoren wurden allerdings in bisherigen Studien recht unterschiedlich operationalisiert, so dass sich keine klare Aussage abzeichnen lässt. Darum beschäftigten wir uns mit der Aufgabe, die Crosslinks im Hinblick auf ihre Therapie zu beurteilen und gleichzeitig Begleitfaktoren (Geschlecht, Alter, Osteoporose-Komorbidität) zu berücksichtigen.

Zunächst wurde überprüft, ob unser RA Patientenkollektiv gegenüber einer bekannten gesunden Kontrollgruppe und einer Gruppe mit bekannter Osteoporose tatsächlich mehr Kollagen-Crosslinks im Urin ausscheidet. Die Rheumapatienten hatten trotz antirheumatisch gut eingestellter Therapie die signifikant höchste PYD Ausscheidung und den größten Quotienten PYD/DPYD, dies wird auch durch andere Arbeiten bestätigt (Fraser und MD 1998, Muller et al. 2003). Patienten mit Osteoporose weisen die höchsten DPYD Werte auf. Gegenüber den gesunden Kontrollen unterscheidet sich bei RA Patienten infolge des progressiven Knorpelabbaus nur PYD und der Quotient PYD/DPYD signifikant, nicht jedoch DPYD.

Die Bedeutung des Pyridinolins und des Quotienten PYD/DPYD als Marker des rheumatoiden Kollagenkatabolismus, insbesondere aus dem chondralen Gewebe, zeigt die gute Korrelation zu den Entzündungswerten (BSG und CrP). Beide spiegeln das Geschehen im Gelenk kongruent wider und verhalten sich analog zu früheren Untersuchungen (Black et al. 1989, Seibel et al. 1989, Gough et al. 1994, Kameyama et al. 2000, Hein et al. 1997). DPYD als Abbaumarker der Knochenmatrix korreliert dagegen

nur schwach mit der BSG und zeigt keine Verbindung zum CrP (Tabelle 6). Ergänzend finden wir bei Einteilung des RA Gesamtkollektives in laborchemisch inaktive ($\text{CrP} < 10 \text{ mg/l}$) und aktive ($\text{CrP} \geq 10 \text{ mg/l}$) RA zwischen beiden Gruppen für PYD (58,41 vs. 78,23 $p=0,000$) und den Quotienten (5,44 vs. 6,20 $p=0,009$) einen signifikanten Unterschied, was für eine deutliche Knorpeldegradation im Gelenk einer entzündungsaktiven RA spricht. Rund 70% der Rheumapatienten hatten CrP Werte kleiner 10, wobei die PYD Werte und der Quotient PYD/DPYD auch in dieser Gruppe noch höher waren als im gesunden Kontrollkollektiv (PYD 58,41 vs. 41,42 $p=0,000$; PYD/DPYD 5,44 vs. 4,42 $p=0,000$). Dies reflektiert ebenfalls eine Arbeit von Molenaar et al., die zeigen konnte, dass trotz klinisch und paraklinisch inaktiver RA ein Kollagenabbau mit Crosslinkausscheidung stattfindet, der deutlich höher ist als bei Gesunden (Molenaar et al. 2000). Das heißt, eine bisher definierte Remission muss nicht mit einem Destruktionsstopp einhergehen (Molenaar et al. 2004). Da offenbar eine Synovitis im Ultraschall sowie Rheumafaktoren und Anti-CCP-AK im Serum nachweisbar sind, auch wenn ein Gelenk klinisch unauffällig ist (Pando et al. 2000, Rantapaa-Dahlqvist et al. 2003), erscheint ein unterschwelliger pathologischer Prozess mit latent gesteigerter Kollagen-Crosslinkausscheidung auch bei „inaktiver“ RA durchaus möglich.

Von Interesse sind ebenso die signifikant positiven Korrelationen zwischen Alter und Pyridinolin ($r=0,341^{**}$ $p=0,000$) sowie dem Desoxypyridinolin ($r=0,199^{**}$ $p=0,003$), während die Erkrankungsdauer nur schwach mit dem Pyridinolin korreliert ($r=0,149^{*}$ $p=0,032$). Diese größeren Zusammenhänge zum PYD deuten auf eine Progression der Erkrankung hin. Die Verbindung des Pyridinolins mit dem Alter wird in Grafik 6 deutlich. Maßgebend beteiligt ist der erhöhte Knochenumsatz mit Beginn der Menopause bei Frauen. Die Crosslinkausscheidung bleibt danach vom 50 bis 79. Lebensjahr durchschnittlich gleichmäßig erhöht. Die mit der Menopause sprunghaft erhöhten Pyridinoline und Desoxypyridinoline im Urin spiegeln den erhöhten Umbau im Knochen bei Frauen wider, eine Folge des Abfalls der Sexualhormone mit negativer Knochenbilanz (Tabelle 7). Kritisch sind die überhöhten Messwerte bei Frauen über dem 80. Lebensjahr zu werten. Zu geringe Patientenzahl, allgemein geringere Muskelmasse im höheren Alter mit erniedrigten Kreatininwerten lassen an einen artifiziellen Anstieg denken (Szulc et al. 2001).

Die relativ geringen Korrelationskoeffizienten zu den Entzündungswerten im Vergleich zu anderen Studien können eventuell als Dokumentation einer relativ gut eingestellten antirheumatischen Versorgungslage in der Ambulanz interpretiert werden. Maximal 10%

der interindividuellen Unterschiede in der Crosslinkausscheidung können durch Unterschiede in den Entzündungsparametern erklärt werden. Nimmt die Crosslinkausscheidung um eine Standardabweichung zu, dann nehmen die Entzündungsparameter BSG und CrP ebenfalls jeweils um 0,29 bzw. 0,23 Standardabweichungen zu (und umgekehrt).

Der Vergleich zwischen den Geschlechtern offenbart deutlich höhere Werte für PYD bei Frauen. Für DPYD und den Quotienten PYD/DPYD waren die Unterschiede sogar signifikant. Auch nach Auftrennung der Patienten in separate Alterstufen von á fünf Jahren beobachten wir deutliche Unterschiede zwischen den Geschlechtern (Grafik 6). Aufgrund der geringeren Prävalenzrate bei Männern haben auch wir geringere Probandenzahlen mit oft nur 2-4 Männern pro Altersgruppe, was die Aussagekraft einschränkt. Dennoch waren im Mittel die PYD Werte um rund 14% höher beim weiblichen Geschlecht. Eine Differenz, die schon von anderen Autoren geschildert wurde. Sie zeigten, dass Frauen etwa 15% höhere Crosslinkspiegel haben als Männer (Robins et al. 1994, Hein et al. 1999).

Bei den Frauen beobachteten wir signifikante Unterschiede hinsichtlich der Auswirkung der Menopause auf die Crosslinkausscheidung verbunden mit einem signifikanten Anstieg von PYD und besonders DPYD oberhalb des 50. Lebensjahres (Tabelle 7). Es herrscht weitgehend Konsens über einen akzelerierten Knorpel- und Knochenmetabolismus in der Menopause, der sich auch in beschriebener erhöhter Kollagen-Crosslinkausscheidung projiziert (Suzuki et al. 1998, Uebelhart und Delmas 1993, Fraser und MD 1998, Gough et al. 1994, Kollerup et al. 1994).

Allgemein können wir sagen, dass wir bezüglich soziodemographischer Marker (Alter, Geschlecht) und Korrelation zur Entzündungsaktivität mehrheitlich Übereinstimmungen mit bekanntem Datenmaterial feststellen konnten.

Für eine korrekte Verallgemeinerung unsere Ergebnisse bezüglich der Medikamente auf alle Patienten hätten wir Probanden beider Geschlechter und aller Altersgruppen erfassen und genau randomisieren müssen. Die Beachtung der zusätzlich sehr individuellen RA Therapie und evtl. Begleiterkrankungen erfordern sehr hohe Fallzahlen, die das Potential unserer rheumatologische Sprechstunde übersteigt. Darum entschlossen wir uns, unsere Beobachtungen im Hinblick auf die Einflussnahme antirheumatischer Medikamente an einem selektierten Patientenkollektiv vorzunehmen. Wir nutzten unsere Voruntersuchungen und entschieden uns für Frauen zwischen dem 50. und 79. Lebensjahr. In dieser Gruppe schien uns der Einfluss des Alters am geringsten, geschlechtsspezifische Faktoren spielten keine Rolle und die Prävalenz einer RA ist nach dem 50. Lebensjahr für

Frauen am höchsten. Frauen über dem 80. Lebensjahr wurden von der Untersuchung ausgeschlossen, da ein überproportionaler Anstieg der Crosslinkmesswerte im Urin im zu hohen Alter zu vermuten ist (Grafik 6). Auf dieser Basis analysierten wir die Crosslinkausscheidung unter differenten nichtsteroidalen Antirheumatika, Glukokortikoideinnahme, Begleitosteoporose und Osteoporosemedikation. Des Weiteren versuchten wir, an dem Beispiel von Methotrexat versus Patienten ohne Basistherapie den Einfluss eines Basistherapeutikums auf die Crosslinkausscheidung zu beschreiben.

Mit Varianzanalysen gelang es uns, durch die Beobachtung von Wechselwirkungen (speziell NSAR-GK und Osteoporose-Osteoporosemedikation) Hypothesen über knorpel- und knochenprotektive Merkmale von Medikamenten zu generieren.

Nach Auftrennung in drei Subgruppen (keine NSAR, nsNSAR und Coxibe) erkennen wir einen nichtsignifikanten Trend zu niedrigerer Ausscheidung des reifen Kollagenfragments PYD unter allgemeiner NSAR Therapie und hier ausgeprägter unter selektiven Cyclooxygenasehemmern. Anzumerken ist die, wie erwartet, niedrige Fallzahl von Patienten ohne NSAR Therapie. Da diese Medikamente wirkungsvoll den rheumatischen Entzündungsprozess zu unterdrücken vermögen, zählen sie meist zur Grundausrüstung der multimodalen Therapiestrategie. Auch in unserer Untersuchung wurden bei rund 88% der RA Patientinnen NSAR eingesetzt, von denen wiederum 30% selektive NSAR bekamen. DPYD und der Quotient PYD/DPYD ändern sich in den drei Gruppen fast nicht. Die leicht erhöhten Entzündungswerte BSG und CrP in beiden NSAR Fraktionen stellen vermutlich auch das Indikationskriterium für diese Therapeutika dar. Trotz dieser erhöhten inflammatorischen Aktivität messen wir niedrigere Pyridinolin Crosslinkspiegel in beiden NSAR Subgruppen, stärker aber unter selektiven NSAR (Tabelle 9, Grafik 8).

Die Komplexität der verschiedenen NSAR hinsichtlich Pharmakokinetik konfrontierte uns schon bei der Studienplanung. Große interindividuelle Unterschiede in Halbwertszeit und Bioverfügbarkeit führten zu ungleicher Ansprechbarkeit der Patienten auf gleiche NSAR. Bei unseren Patienten waren NSAR jeweils schon länger als sechs Monate wirkungsvoller Bestandteil der RA Therapie. Von einer ausreichenden Konzentration des jeweiligen NSAR im Körper und vor allem am Wirkort musste ausgegangen werden. Auch pharmakodynamisch bildete unsere Einteilung in nsNSAR und Coxibe eine allgemein akzeptierte, wenngleich grobe Einteilung. Bei den nsNSAR gibt es noch differenziertere Unterschiede in der Cyclooxygenaseselektivität, die wir nicht näher in unserer Untersuchung berücksichtigen konnten. Klinisch pharmakologisch klassifiziert man hierbei

in hochselektive COX1 (ASS), unselektive COX (Diclofenac, Indomethazin, Piroxicam, Ibuprofen) und präferenzielle COX2 (Meloxicam) Inhibitoren (Frolich 1997).

Unter niedrigdosierter Glukokortikoidtherapie verzeichnen wir eine Entwicklung zu höheren PYD Werten gegenüber der Vergleichsgruppe von RA Patienten ohne Steroidbelastung, während DPYD fast gleich bleibt (Tabelle 10). Vergleichbare Crosslinkerhöhung trotz knorpelprotektiver Eigenschaften der GK konnten auch andere wissenschaftliche Arbeiten dokumentieren (Astbury et al. 1994, Seibel et al. 1989, Jensen et al. 2001). Die signifikant erhöhte Erkrankungsdauer und entzündliche Aktivität in der GK Subgruppe könnten die erhöhten PYD Werte begründen. Die prozentuale Überlegenheit eines Knochenmasseverlustes in der Steroidgruppe spiegelt sich nicht in erhöhten DPYD Werten wider. Da fast alle RA Patientinnen mit nachgewiesener Osteopenie bzw. Osteoporose (ca. 91%) eine medikamentöse Gegenregulation bekamen, kann die Prophylaxe mit VitaminD+Kalzium bzw. eine Therapie mit zusätzlichen Bisphosphonaten einen Erklärungsgrund für die unveränderten DPYD Spiegel im Urin und somit wiederhergestelltem Knochenremodeling unter GK liefern. Wir deuten die nicht signifikant erhöhten PYD Werte als Resultat einer höheren Grundaktivität der RA im Gelenk, was schließlich auch die Indikation für GK darstellte, und einer längeren Erkrankungsdauer. Aufgrund der lange bestehenden RA bei unseren Patientenkollektiv mit Steroiden erkennen wir keinen direkt positiven Effekt der GK auf den Knorpel- und Knochenstoffwechsel, wie ihn beispielsweise van Everdingen bei der frühen RA beschrieb (van Everdingen et al. 2002). Den klinischen Benefit dieser Medikamentengruppe können wir hiermit nicht beurteilen. Auf den Knochenstoffwechsel (DPYD) erfassten wir nur einen geringen Einfluss durch die niedrig dosierte GK Gabe, da mehrheitlich gut gegen eine Begleitosteoporose vorgebeugt wurde. Unser Ergebnis sollte aber nur unter Vorbehalt bewertet werden. Aus den nachfolgenden Varianzanalysen entnehmen wir, dass die simultane NSAR Einnahme wesentliche Wechselwirkungen auf das Resultat ausüben kann. Beispielsweise finden sich in der Gruppe ohne NSAR bei Patienten mit GK wesentlich niedrigere PYD und DPYD Werte, während diese bei simultaner nsNSAR oder Coxibe Therapie deutlich ansteigen (Tabelle 11+12). Die Bedeutung der PYD Werte in diesem Zusammenhang ergibt sich eventuell auch hier als Repräsentation der gesteigerten Entzündungsaktivität im Gelenk bei RA Patienten, die deshalb auch NSAR und GK simultan bekommen (Jensen et al. 2001). Auch in unserer Untersuchung trägt die höhere Entzündungsaktivität, stellvertretend durch das signifikant höhere CrP repräsentiert, in der

Glukokortikoidgruppe wahrscheinlich zusätzlich Verantwortung für die hohen PYD Werte, wobei der Summationseffekt einer begleitenden Osteoporosetherapie außerdem eine wichtige Rolle zu spielen scheint (Tabelle 10). Glukokortikoide beeinflussen zum einen die Osteoklasten sowie Osteoblasten, zum anderen können sie durch Steigerung des renalen Kalziumverlustes und Verminderung der intestinalen Kalziumaufnahme zu einem diskreten Hyperparathyreoidismus führen. Eine häufig bei RA resultierende, generalisierte Begleitosteoporose muss jedoch nicht glukokortikoidinduziert sein, sondern kann sich auch entzündungsmediert durch die generalisierte Grunderkrankung manifestieren. Steroide können durch Entzündungshemmung in niedriger Dosierung auch präventiv wirken und die radiologische Progredienz und den Knochenmasseverlust bei der frühen RA aufhalten (Kirwan 1995, van Everdingen et al. 2002), Evidenzgrad lt. DGRH 1+).

Verhoeven und Boers beschrieben in einer Arbeit einen Knochenmasseverlust vor allem bei der frühen RA innerhalb des ersten Jahres einer Steroidtherapie. Geringer sei dieser im weiteren Verlauf und auch unter niedrigdosierten Glukokortikoiden limitiert. Wesentlich höher sei er bei Gesunden unter Steroidbelastung (Verhoeven und Boers 1997). Auch dieses Erkenntnis würde unsere geringen DPYD Werte erklären.

Rund die Hälfte unserer RA Patientinnen zwischen dem 50. und 79. Lebensjahr waren auf niedrig dosierte Glukokortikoide eingestellt, während 88% NSAR einnahmen. Da somit häufig eine Kombinationstherapie zwischen beiden Medikamenten vorlag, beleuchteten wir mögliche Wechselwirkungen auf das Gesamtbild der Crosslinkausscheidung. Gemeinsame pathophysiologische Theorien über antiinflammatorische Angriffspunkte (z.B. COX2-Hemmung) machen diese Untersuchung zusätzlich interessant. Dazu dienten univariate Varianzanalysen. Nur in der Gruppe ohne simultane Glukokortikoideinnahme fanden wir für PYD deutlich geringere Werte bei Patienten mit Coxiben gegenüber Patienten mit unselektiven NSAR ($p=0,001$) und ohne NSAR ($p=0,079$). An dieser Differenz war die peptidgebunde Fraktion maßgebend beteiligt. Bei gleichzeitiger Glukokortikoidtherapie fanden wir keine statistisch relevanten Interaktionen innerhalb der NSAR Subgruppen. Nur in der Gruppe der Coxibe fanden sich signifikant höhere PYD Spiegel bei Patienten mit Steroiden gegenüber ohne. Gleiches entdeckten wir für den Quotienten PYD/DPYD. Beides spricht für einen stärkeren Knorpelabbau bei Patienten mit NSAR und GK Therapie. Den Antrieb dafür sehen wir nur zum Teil in der höheren Entzündungsaktivität der RA bei diesem Patientenkollektiv, gemessen an CrP und BSG (erhöht in GK Gruppen), die deshalb auch die kombinierte antientzündliche Therapie benötigen (Tabelle 12, Grafik 10). Beide Entzündungsparameter variieren jedoch im

Interaktionsvergleich nicht signifikant. Offensichtlich wird der gesteigerte Entzündungsprozess durch die Kombinationstherapie (NSAR und GK) limitiert, aber der Kollagenabbau kann in dieser Patientengruppe auch durch die stets begleitende DMARD Therapie nur unzufrieden beeinflusst werden. Ursache kann eine klinisch aktivere und schwerer kontrollierbare RA sein, die einer Ausschöpfung aller Therapieoptionen bedarf. Ein Bild, welches wir in den NSAR Gruppen ohne begleitende GK Therapie weniger beobachten.

Die Ergebnisse dieser Varianzanalysen basieren auf Post-Hoc Untersuchungen und bergen bei der Interpretation die Gefahr des logischen Fehlers einer falschen Kausalitätsannahme in sich (post hoc ergo propter hoc). Da die Prüfung im Nachhinein nach einem breiten signifikanten Gesamtergebnis (Overall Signifikanz) durchgeführt wurde, können wir damit jedoch keine Hypothesen testen. Das heißt, ohne genaue Untersuchung wird ein Zusammenhang zwischen beiden Ereignissen unterstellt. Somit erhält man nur Annahmen und Vermutungen darüber, welche Unterschiede genau bestehen könnten. Da allgemein gilt, dass mit den gleichen Daten nicht gleichzeitig Hypothesen generiert und getestet werden können. Es wäre ein Trugschluss, zu behaupten, dass die Glukokortikoideinnahme bei gleichzeitiger NSAR Therapie schlecht wäre. Wir können jedoch beweisen, dass zwischen diesen beiden Medikamenten Wechselwirkungen existieren, welche dies jedoch im speziellen sind, können wir nur Post-Hoc vermuten. Dennoch sind Varianzanalysen in diesem Fall der Auswertung das Mittel der Wahl, um einen kumulierten α Fehler zu vermeiden. Sie sind außerdem relativ robust gegenüber möglichen Verletzungen ihrer Voraussetzungen.

Beobachtet man in der Gruppe ohne Glukokortikoide die Gesamtcrosslinks im Verhältnis zu ihrem freien Anteil, so zeigt sich, dass in der Gruppe ohne NSAR die Fraktion des freien PYD ca. 42% am Gesamtpyridinolinanteil beträgt. Dieser Wert entspricht auch ungefähr den Angaben der Literatur von ca. 40% (Fujimoto et al. 1983, Muller et al. 2003). Etwas höhere Anteile von 50% konstatierten andere Autoren (Eyre 1995, Abbiati et al. 1993, Seibel et al. 1994). Bei der Einnahme von NSAR und vor allem Coxiben steigt der proteinfreie Anteil in unserer Untersuchung von 42% auf etwa 50%, während die Gesamtpyridinlonkonzentration abnimmt. Dies würde bedeuten, dass im Wesentlichen der peptidgebundene Part durch antiresorptive Therapie beeinflusst wird. Unter Berücksichtigung einer Studie von Schmidt-Gayk et al., in der bei steigender Knochenresorption das Verhältnis freier zu peptidgebundenen Crosslinks von 55% auf 32% deutlich sank, deutet dies ebenfalls auf eine Verminderung der freien

Crosslinkfraktion bei erhöhtem Knorpel- und Knochenturnover hin (Schmidt-Gayk et al. 1995). Da bei unseren Ergebnissen unter nsNSAR, und auch besonders Coxiben, die freien Kollagen-Crosslinks im Verhältnis zur Gesamtfraction wiederum deutlich zunahmen, ist dies ein weiterer Hinweis für ein antiresorptives Potential der NSAR.

Garnero zeigte mit seiner Forschungsgruppe, dass die Fraction des fDPYD postmenopausal 45% und prämenopausal 59% betrug. Sie beschrieben außerdem einen signifikant niedrigeren Anteil von fPYD und fDPYD bei Patienten mit Knochenstoffwechselstörungen, wie z.B. Osteoporose, M. Paget, Hyperthyreose oder Knochenmetastasen gegenüber der Kontrolle. Auch in einer Veröffentlichung von 1999 betrug der Anteil freier PYD prämenopausal rund 40% und fiel postmenopausal auf knapp 30% (Takahashi et al. 1999). Aus Tabelle 7 entnehmen wir einen Anteil der freien Fraction prämenopausal für PYD rund 56% und DPYD etwa 64%. Nach dem 50. Lebensjahr nimmt dieser freie Anteil für PYD auf 49% bzw. für DPYD auf 53% deutlich ab. Mit zunehmenden Knochenturnover scheint also der Anteil der freien Crosslinks an der Gesamtfraction abzunehmen.

Die Nebendiagnose Osteoporose hatte bei unseren Patientinnen zwischen dem 50. bis 79. Lebensjahr genau die Hälfte der Probanden. Ob es sich dabei um eine postmenopausale, altersbedingte oder eine sekundäre Osteoporose im Rahmen einer langjährigen RA bzw. Glukokortikoidtherapie handelte, ist nicht klar differenzierbar. Aus Tabelle 13 wird eine längere Erkrankungsdauer und höheres Lebensalter bei RA Patienten mit Begleitosteoporose offensichtlich. Etwa doppelt so viel Patienten mit Osteoporose hatten eine Glukokortikoidtherapie im Vergleich ohne Osteoporose. Beachten wir die unabhängigen Variablen Osteoporoseerkrankung und Osteoporosemedikation jeweils für sich alleine, so ergeben sich im Vergleich keine bedeutsamen Unterschiede (Tabelle 13+14, Grafik 12, 13). Die visuell niedrigeren PYD und DPYD Spiegel unter kombinierter VitaminD+Kalzium und Bisphosphonattherapie ergaben durch die statistische Prüfung keine Relevanz (Tabelle 14, Grafik 13).

In der Varianzanalyse Begleitosteoporose und Osteoporosemedikation zusammen betrachtet führt uns eine Overall Signifikanz zu einer deutlichen Kovarianz (Tabelle 15+16+17). In der Gruppe der Begleitosteoporose führt eine Osteoporosemedikation zum signifikanten Abfall von DPYD besonders durch zusätzliche Bisphosphonate (Tabelle 17 $p=0,004$). Dies ist analog zu Resultaten anderer Arbeitsgruppen (Tobias et al. 1996, Wilkinson et al. 2003). Markant für DPYD ist weiterhin der Unterschied zwischen Patienten mit (17,66 nmol/mmol Crea) und ohne (13,06 nmol/mmol Crea) nachweisbarem

Knochenschwund, die alle keine Osteoporosemedikamente hatten ($p=0,023$). Der generalisierte Knochenverlust als Ergebnis von chronischer Entzündung, Immobilität, Krankheitsaktivität, Ausgangsknochenbeschaffenheit und Steroidbelastung spiegelt sich bei uns statistisch signifikant vor allem für DPYD wider. Für PYD, das bei RA Patienten quantitativ meist aus dem Knorpel kommt, aber auch im Knochen vorhanden ist, ergeben sich ähnliche Tendenzen. Den gesteigerten Knochenabbau bei Osteoporose ohne Therapie erkennen wir auch in einer deutlich niedrigeren freien Fraktion für PYD von 48% (keine Osteoporose) vs. 38% (mit Osteoporose) und für DPYD von 52% (keine Osteoporose) vs. 38% (Osteoporose). Eine antiresorptive Therapie mit Bisphosphonaten führte zum Abfall der peptidgebundenen Crosslinkfraktion und zum Anstieg des freien Anteils (Garnero et al. 1995). Zusätzliche Evidenz erhielt diese Aussage durch unsere Arbeit. Bei Patienten mit Osteoporose stieg der freie PYD Anteil unter kombinierter VitaminD+Kalzium und Bisphosphonattherapie von 38% auf 52% und der freie DPYD Anteil von 38% auf 57% (Tabelle 17). Gemeinsam mit der Erkenntnis, dass der Quotient PYD/DPYD fast keine Veränderungen zeigt, können wir schlussfolgern, dass unsere Resultate die pathophysiologischen Vorstellungen des Knochenmetabolismus bei Osteoporose und medikamentöser Therapie auch bei RA gut widerspiegeln. Einen direkten antirheumatischen Effekt durch Calciferol+Kalzium und Bisphosphonate erkennen wir mittels unserer Knorpel- und Knochenabbaumarkern nicht. Grund dafür sehen wir in dem auffälligen, aber nicht signifikanten Anstieg des Quotienten PYD/DPYD von 4,72 (Osteoporose ohne Therapie) versus 6,00 (Osteoporose mit Vit.D+Kalzium und Bisphosphonaten). Die Osteoporosetherapie scheint sich, wie vermutet, auch bei der RA vermehrt auf das Knochencrosslink DPYD niederzuschlagen, wodurch der Quotient ansteigt. Synchron muss bei der Beurteilung der Kollagen-Crosslinks die begleitende Osteoporose und stets die gleichzeitige Osteoporosetherapie berücksichtigt werden. Selbst wenn bei reiner Osteoporose der Gelenkknorpel wenig beeinflusst ist, gibt es deutliche Veränderungen auch in der Pyridinolinausscheidung bei RA-Patienten.

An einer kleinen Subpopulation versuchten wir der Frage nachzugehen, ob sich Patienten mit Basistherapeutika in ihrem Verhalten bezüglich der Crosslinkausscheidung zu einer Vergleichsgruppe ohne Basistherapeutika unterscheiden. Im Kuchendiagramm (Grafik 16) erkennen wir die Verteilung der Basismedikamente in unserem Patientenkollektiv. Die Verteilungshäufigkeiten und auch der Kombinationsanteil an Basistherapeutika entsprechen den Trends der Kerndokumentation des „Kompetenznetz Rheuma“ (Zink et al. 2004). Methotrexat als Hauptvertreter sollte als Beispiel für die DMARDs dienen.

Aufgrund dem relativ raschen Wirkbeginn, der guten Compliance und der Wirksamkeit ist MTX ein effizientes und ökonomisches Medikament zur Behandlung der RA. Den positiven Effekten auf den rheumatischen Entzündungsprozess stehen jedoch eine Reihe von Nebenwirkungen gegenüber. Studien an Tieren bzw. in vitro verdeutlichten, dass MTX die Osteoblastendifferenzierung stört und auch die Matrixsynthese hemmen kann (May et al. 1996, Uehara et al. 2001). Dies kann die Knochenbildung aufhalten und zu Osteopenie führen. Buckley et al. fanden in einer follow-up Studie über drei Jahre, dass besonders MTX in der Kombination mit Glukokortikoiden zum Verlust der Knochendichte beiträgt (Buckley et al. 1997). Diese, in der Literatur postulierte Methotrexat-Osteoporose mit erhöhtem Knochenabbau und verminderter Knochenneubildung könnte auch in unserer Untersuchung Wirkung auf die Urincrosslinkspiegel haben. Entgegen diesen Aussagen ist MTX in der Lage, bei RA echte Remissionen hervorzurufen und die radiologische Progredienz aufzuhalten. Auch auf die Knochendichte scheint MTX wenig Einfluss zu haben (di Munno et al. 2004). Weiterhin soll MTX den Knochenmetabolismus bei RA verbessern und die gesteigerte Matrixresorption vermindern. Dabei konnte vor allem DPYD signifikant reduziert werden (Torikai et al. 2006, El Miedany et al. 1998).

Aus unserem Gesamtkollektiv konnten wir jeweils 11 Patientenpaare hinsichtlich Alter, Geschlecht, NSAR und GK Einnahme präzise gegenüberstellen. Wir fanden keine signifikanten Unterschiede bei den Entzündungsparametern und den Markern des Knochenabbaus. Tendenziell waren alle Werte in der MTX Gruppe höher. Allerdings wird die Interpretation der Ergebnisse durch die niedrige Fallzahl erschwert. Versuchen wir es dennoch, so ist es nahe liegend, dass aufgrund der erhöhten Entzündungsaktivität bei den mit MTX therapierten Patienten PYD und DPYD nicht signifikant erhöht sind (Grafik 17). Da der Quotient PYD/DPYD fast konstant bleibt, spielen sich die Resultate eher auf Knochenebene ab, wenngleich die Osteoporoseprävalenz in beiden Gruppen gleich war. Diese leicht erhöhte Knochenaktivität unter den MTX Patienten interpretieren wir eher als Resultat einer aktiveren RA mit generalisiertem Krankheitsbild und diese summiert sich wahrscheinlich durch gelenknahen und systemischen Knochenabbau. Die oben zitierte follow-up-Studie von Torikai et al. über 6 Monate anhand von 30 Patienten und initialer MTX Therapie entkräftigt vermutlich die Ergebnisse unserer Querschnittsstudie mit geringerer Fallzahl.

7. SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK

Durch die Wahl unseres Studienaufbaus konnten wir zunächst typische Merkmale der Kollagen-Crosslinkausscheidung bei RA bestätigen und Beziehungen zu demographischen Daten darstellen. Mehrheitlich deckten sich unsere Ergebnisse mit vergleichbaren Angaben der Literatur. Die Selektion einer bestimmten Subgruppe für die Analyse der medikamentösen Einflussnahme auf die Crosslinkausscheidung im Urin ermöglichte uns wichtige soziodemographische Kovarianten zu minimieren, um so repräsentative und klinisch relevante Ergebnisse zu erhalten. Unsere Fall-Kontroll-Studie besticht durch die Nähe zur klinischen Praxis, unterliegt jedoch einer niedrigeren Beweiskraft gegenüber einem prospektiven Ansatz.

Die sehr individuellen Therapiestrategien unterscheiden sich erheblich in ihrer Komposition. Medikamente mit verschiedenen und zumindest partiell unklaren pharmakologischen Angriffspunkten werden kombiniert. Synergistische Effekte können die maximale Wirkung der Einzelsubstanz übersteigen und ermöglichen somit eine Dosisreduktion der einzelnen Medikamente und damit auch eine Verminderung der dosisabhängigen Nebenwirkungen. Eine Kovarianz und mögliche Haupteffekte auch auf die Crosslinkausscheidung sind hierbei nicht auszuschließen und finden durch unsere Varianzanalyse Berücksichtigung. Die pharmakologisch meist multimodale Therapie einer RA unterstreicht die klinische Relevanz einer solchen Betrachtung. Wir beschränkten uns auf die Wechselwirkung zwischen maximal zwei Faktoren. Eine weitere Aufschlüsselung ließ die Vielfalt von Kombinationen und die damit sich dezimierende Fallzahl der Subgruppen nicht zu. Dennoch konnten wir auf diese Weise gute Aussagen über die Einflussnahme auf knorpel- und knochenresorptive Prozesse durch eine antirheumatische Therapie gewinnen. Unsere Ergebnisse tragen dazu bei, die Ausscheidung von Kollagen-Crosslinks besser einzuordnen, wenn diese zum Krankheitsmonitoring oder zur Therapieoptimierung herangezogen werden. Post-Hoc Analysen erlaubten uns hierbei interessante Hypothesen über medikamentöse Interaktionsmechanismen und Wirkprinzipien bei der Crosslinkausscheidung aufzustellen, die es in Zukunft in prospektiven klinischen Studien zu belegen gilt. Dazu gehört auch die vergleichende Einbeziehung diverser Aktivitätsindizes, wie zum Beispiel den Disease activity score (DAS28) und anderen Biomarkern. Kollagen-Crosslinks scheinen zur Evaluierung der Knorpel- und Knochenresorption von großem Interesse, da sie z.B. gegenüber anderen bildgebenden Verfahren den Kollagenstatus im Gelenk aktueller widerspiegeln können. Ob

sie sich als Verlaufsparemeter oder auch Bestandteil eines Scoresystems zur Einschätzung der Krankheitsaktivität und des Therapieerfolges bei RA in der Routine durchsetzen, bleibt noch ungewiss. Auch für die Osteoporose wird die Kollagen-Crosslinkbestimmung nicht routinemäßig eingesetzt. Hier dominiert die Knochendichtemessung mit der Röntgenabsorptiometrie (DEXA). Da die Frakturinzidenz jedoch schon deutlich ansteigt bei noch wenig reduzierter Knochendichte, werden sensiblere Verfahren zur Beurteilung der Knochenqualität notwendig.

Die Diskussionen um die klassischen und COX2 spezifischen NSAR im Hinblick auf kardiovaskuläre Arzneimittelwirkungen entflammten besonders in den letzten Jahren und sind sehr widersprüchlich. Die Interpretationen der vielfältigen Studien werden selbst unter Experten kontrovers geführt und belegen die Komplexität dieser Fragestellung. Nach derzeitigem Kenntnisstand bleiben NSAR und auch Coxibe fester Bestandteil im Therapiekonzept der RA. Sie bilden neben dem Einsatz von Glukokortikoiden, Basistherapeutika und den neueren Biologicals besonders bei rationalem Umgang eine gute Ergänzung. Neben der symptomatischen Wirkung von NSAR sollte vor allem ein knorpelprotektiver und damit progressionsverzögernder Wirkmechanismus weiter untersucht werden.

Auch neue immunmodulierende Therapieansätze werden hinsichtlich knorpel- und knochenschützender Wirkung überprüft. Der Eingriff in sehr frühe Stufen der ständig ablaufenden gestörten Immunkaskade soll schon die Kommunikation zwischen den Zellen und somit die Bildung von Entzündungsmediatoren verhindern. Gutes Potential bieten der noch in klinischer Studie befindliche T-Zell-Modulator Abatacept und der an B-Zellen bindende CD20-Antikörper Rituximab. Beide können wahrscheinlich beim Versagen der bisherigen Biologicals optimistisch eingesetzt werden und vermögen bei der RA Remissionen hervorzurufen (Smolen et al. 2007). Hinsichtlich der Ausscheidung von Kollagenabbaumarkern gibt es hierfür noch kein publiziertes Datenmaterial. Auch der noch nicht zugelassene IL6-Antikörper Tocilizumab und der RANKL-Antikörper Denosumab bilden weitere künftige Behandlungsoptionen für RA Patienten (Bayry et al. 2007, Lewiecki et al. 2007).

Dennoch gibt es kein für alle rheumatoiden Arthritisfälle verbindliches Therapieschema. Ziel ist eine individuelle Behandlung unter Beachtung von Alter, Geschlecht, Begleiterkrankungen, aktuellen Beschwerden und Aktivität der rheumatoiden Arthritis. Nicht zuletzt ist ein Großteil der Patienten multimorbide und bedarf bei der Therapieauswahl einer ganzheitlichen Medizin mit interdisziplinärer Berücksichtigung.

8. LITERATURVERZEICHNIS

- Abbiati G, Bartucci F, Longoni A, Fincato G, Galimberti S, Rigoldi M, Castiglioni C. 1993. Monitoring of free and total urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in healthy volunteers: sample relationships between 24-h and fasting early morning urine concentrations. *Bone Miner*, 21 (1):9-19.
- Adachi JD, Bensen WG, Bianchi F, Cividino A, Pillersdorf S, Sebaldt RJ, Tugwell P, Gordon M, Steele M, Webber C, Goldsmith CH. 1996. Vitamin D and calcium in the prevention of corticosteroid induced osteoporosis: a 3 year followup. *J Rheumatol*, 23 (6):995-1000.
- Adachi JD, Roux C, Pitt PI, Cooper C, Moniz C, Dequeker J, Ioannidis G, Cawley MI, Jenkins EA, Walker-Bone KE, Pack S, Stephenson GF, Laan RF, Brown J, Geusens P. 2000. A pooled data analysis on the use of intermittent cyclical etidronate therapy for the prevention and treatment of corticosteroid induced bone loss. *J Rheumatol*, 27 (10):2424-2431.
- ADAPT Research Group. 2006. Cardiovascular and Cerebrovascular Events in the Randomized, Controlled Alzheimer's Disease Anti-Inflammatory Prevention Trial (ADAPT). *PLoS Clin Trials*, 1 (7):e33.
- Allard SA, Muirden KD, Maini RN. 1991. Correlation of histopathological features of pannus with patterns of damage in different joints in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 50 (5):278-283.
- Anderson GD, Hauser SD, McGarity KL, Bremer ME, Isakson PC, Gregory SA. 1996. Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *J Clin Invest*, 97 (11):2672-2679.
- Astbury C, Bird HA, McLaren AM, Robins SP. 1994. Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen correlated with joint damage in arthritis. *Br J Rheumatol*, 33 (1):11-15.
- Bas S, Genevay S, Meyer O, Gabay C. 2003. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 42 (5):677-680.
- Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Kaveri SV. 2007. Monoclonal antibody and intravenous immunoglobulin therapy for rheumatic diseases: rationale and mechanisms of action. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 3 (5):262-272.
- Beardsworth LJ, Eyre DR, Dickson IR. 1990. Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylslypyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. *J Bone Miner Res*, 5 (7):671-676.
- Berglin E, Padyukov L, Sundin U, Hallmans G, Stenlund H, Van Venrooij WJ, Klareskog L, Dahlqvist SR. 2004. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 6 (4):R303-308.
- Black D, Marabani M, Sturrock RD, Robins SP. 1989. Urinary excretion of the hydroxypyridinium cross links of collagen in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 48 (8):641-644.
- Boers M, Verhoeven AC, van der Linden S. 1997. [Combination therapy in early rheumatoid arthritis: the COBRA study]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 141 (50):2428-2432.
- Bolzner C, Muller A, Braunig E, Hein G. 2003. [Collagen breakdown in ankylosing spondylitis-relationship to disease related parameters]. *Z Rheumatol*, 62 (5):459-467.

- Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK, Schnitzer TJ. 2000. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med*, 343 (21):1520-1528, 1522 p following 1528.
- Bromley M, Woolley DE. 1984. Chondroclasts and osteoclasts at subchondral sites of erosion in the rheumatoid joint. *Arthritis Rheum*, 27 (9):968-975.
- Brooks PM. 1993. Clinical management of rheumatoid arthritis. *Lancet*, 341 (8840):286-290.
- Brosch S, Redlich K, Pietschmann P. 2003. [Pathogenesis of osteoporosis in rheumatoid arthritis]. *Acta Med Austriaca*, 30 (1):1-5.
- Buckley LM, Leib ES, Cartularo KS, Vacek PM, Cooper SM. 1996. Calcium and vitamin D3 supplementation prevents bone loss in the spine secondary to low-dose corticosteroids in patients with rheumatoid arthritis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*, 125 (12):961-968.
- Buckley LM, Leib ES, Cartularo KS, Vacek PM, Cooper SM. 1997. Effects of low dose methotrexate on the bone mineral density of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 24 (8):1489-1494.
- Campbell IA, Douglas JG, Francis RM, Prescott RJ, Reid DM. 2004. Five year study of etidronate and/or calcium as prevention and treatment for osteoporosis and fractures in patients with asthma receiving long term oral and/or inhaled glucocorticoids. *Thorax*, 59 (9):761-768.
- Cannon CP, Curtis SP, FitzGerald GA, Krum H, Kaur A, Bolognese JA, Reicin AS, Bombardier C, Weinblatt ME, van der Heijde D, Erdmann E, Laine L. 2006. Cardiovascular outcomes with etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the Multinational Etoricoxib and Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a randomised comparison. *Lancet*, 368 (9549):1771-1781.
- Cha HS, Ahn KS, Jeon CH, Kim J, Koh EM. 2004. Inhibitory effect of cyclo-oxygenase-2 inhibitor on the production of matrix metalloproteinases in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatol Int*, 24 (4):207-211.
- Chesnut CH, 3rd, McClung MR, Ensrud KE, Bell NH, Genant HK, Harris ST, Singer FR, Stock JL, Yood RA, Delmas PD, et al. 1995. Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am J Med*, 99 (2):144-152.
- Cole BC, Griffiths MM. 1993. Triggering and exacerbation of autoimmune arthritis by the *Mycoplasma arthritidis* superantigen MAM. *Arthritis Rheum*, 36 (7):994-1002.
- Colwell A, Eastell R. 1996. The renal clearance of free and conjugated pyridinium cross-links of collagen. *J Bone Miner Res*, 11 (12):1976-1980.
- Crofford LJ, Lipsky PE, Brooks P, Abramson SB, Simon LS, van de Putte LB. 2000. Basic biology and clinical application of specific cyclooxygenase-2 inhibitors. *Arthritis Rheum*, 43 (1):4-13.
- Dalle Carbonare L, Chavassieux PM, Arlot ME, Meunier PJ. 2002. Bone histomorphometry in untreated and treated glucocorticoid-induced osteoporosis. *Front Horm Res*, 30:37-48.
- de Vries BJ, van den Berg WB, Vitters E, van de Putte LB. 1988. Effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs on cartilage destruction in antigen induced arthritis in mice. *Scand J Rheumatol Suppl*, 77:23-28.
- Delany AM, Gabbitas BY, Canalis E. 1995. Cortisol downregulates osteoblast alpha 1 (I) procollagen mRNA by transcriptional and posttranscriptional mechanisms. *J Cell Biochem*, 57 (3):488-494.

- Delmas PD, Gineyts E, Bertholin A, Garnero P, Marchand F. 1993. Immunoassay of pyridinoline crosslink excretion in normal adults and in Paget's disease. *J Bone Miner Res*, 8 (5):643-648.
- Depper JM, Zvaifler NJ. 1981. Epstein-Barr virus. Its relationship to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 24 (6):755-761.
- di Munno O, Mazzantini M, Sinigaglia L, Bianchi G, Minisola G, Muratore M, la Corte R, di Matteo L, Canesi B, Caminiti M, Brogгинi M, Adami S. 2004. Effect of low dose methotrexate on bone density in women with rheumatoid arthritis: results from a multicenter cross-sectional study. *J Rheumatol*, 31 (7):1305-1309.
- Eastell R, Devogelaer JP, Peel NF, Chines AA, Bax DE, Sacco-Gibson N, Nagant de Deuxchaisnes C, Russell RG. 2000. Prevention of bone loss with risedronate in glucocorticoid-treated rheumatoid arthritis patients. *Osteoporos Int*, 11 (4):331-337.
- Eggelmeijer F, Papapoulos SE, van Paassen HC, Dijkmans BA, Valkema R, Westedt ML, Landman JO, Pauwels EK, Breedveld FC. 1996. Increased bone mass with pamidronate treatment in rheumatoid arthritis. Results of a three-year randomized, double-blind trial. *Arthritis Rheum*, 39 (3):396-402.
- El Miedany YM, Abubakr IH, El Baddini M. 1998. Effect of low dose methotrexate on markers of bone metabolism in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 25 (11):2083-2087.
- Emery P, Zeidler H, Kvien TK, Guslandi M, Naudin R, Stead H, Verburg KM, Isakson PC, Hubbard RC, Geis GS. 1999. Celecoxib versus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison. *Lancet*, 354 (9196):2106-2111.
- Eyre DR. 1995. The specificity of collagen cross-links as markers of bone and connective tissue degradation. *Acta Orthop Scand Suppl*, 266:166-170.
- Fleisch H, Russell RG, Francis MD. 1969. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science*, 165 (899):1262-1264.
- Forwood MR. 1996. Inducible cyclo-oxygenase (COX-2) mediates the induction of bone formation by mechanical loading in vivo. *J Bone Miner Res*, 11 (11):1688-1693.
- Fraser WD, MD F. 1998. The Collagen Crosslinks Pyridinoline and Deoxypyridinoline: A Review of Their Biochemistry, Physiology, Measurement, and Clinical Applications. *Journal of Clinical Ligand Assay*, 21:102110:102-110.
- Frolich JC. 1997. A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes. *Trends Pharmacol Sci*, 18 (1):30-34.
- Fujimoto D, Suzuki M, Uchiyama A, Miyamoto S, Inoue T. 1983. Analysis of pyridinoline, a cross-linking compound of collagen fibers, in human urine. *J Biochem (Tokyo)*, 94 (4):1133-1136.
- Gabriel SE, Crowson CS, O'Fallon WM. 1999. The epidemiology of rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, 1955-1985. *Arthritis Rheum*, 42 (3):415-420.
- Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. 1994. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J Clin Endocrinol Metab*, 79 (6):1693-1700.
- Garnero P, Gineyts E, Arbault P, Christiansen C, Delmas PD. 1995. Different effects of bisphosphonate and estrogen therapy on free and peptide-bound bone cross-links excretion. *J Bone Miner Res*, 10 (4):641-649.
- Geiler G. 1996. [Pathology and progression of intra-articular inflammation in rheumatoid arthritis]. *Verh Dtsch Ges Pathol*, 80:46-57.
- Gennari C. 2001. Calcium and vitamin D nutrition and bone disease of the elderly. *Public Health Nutr*, 4 (2B):547-559.

- Gilroy DW, Tomlinson A, Greenslade K, Seed MP, Willoughby DA. 1998. The effects of cyclooxygenase 2 inhibitors on cartilage erosion and bone loss in a model of *Mycobacterium tuberculosis*-induced monoarticular arthritis in the rat. *Inflammation*, 22 (5):509-519.
- Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, van Zeben D, Kerstens PJ, Hazes JM, Zwinderman AH, Roday HK, Han KH, Westedt ML, Gerards AH, van Groenendaal JH, Lems WF, van Krugten MV, Breedveld FC, Dijkmans BA. 2005. Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study): a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum*, 52 (11):3381-3390.
- Gough AK, Peel NF, Eastell R, Holder RL, Lilley J, Emery P. 1994. Excretion of pyridinium crosslinks correlates with disease activity and appendicular bone loss in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 53 (1):14-17.
- Hansen M, Podenphant J, Florescu A, Stoltenberg M, Borch A, Kluger E, Sorensen SF, Hansen TM. 1999. A randomised trial of differentiated prednisolone treatment in active rheumatoid arthritis. Clinical benefits and skeletal side effects. *Ann Rheum Dis*, 58 (11):713-718.
- Harris ED, Jr., Parker HG, Radin EL, Krane SM. 1972. Effects of proteolytic enzymes on structural and mechanical properties of cartilage. *Arthritis Rheum*, 15 (5):497-503.
- Heidenreich A, Hofmann R, Engelmann UH. 2001. The use of bisphosphonate for the palliative treatment of painful bone metastasis due to hormone refractory prostate cancer. *J Urol*, 165 (1):136-140.
- Hein G. 2007. Besonderheiten der steroidinduzierten Osteoporose. *Der Orthopäde*, 36 (8):708-713.
- Hein G, Oelzner P. 2000. [Vitamin D metabolites in rheumatoid arthritis: findings--hypotheses--consequences]. *Z Rheumatol*, 59 Suppl 1:28-32.
- Hein G, Schmidt F, Barta U, Muller A. 1999. Is there a psoriatic osteopathy? -- the activity of bone resorption in psoriatics is related to inflammatory joint process. *Eur J Med Res*, 4 (5):187-192.
- Hein G, Franke S, Muller A, Braunig E, Eidner T, Stein G. 1997. The determination of pyridinium crosslinks in urine and serum as a possible marker of cartilage degradation in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, 16 (2):167-172.
- Hench PS KE, Slocumb CH, Polley HF. 1949. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11dehydro-corticosterone: compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. *Proc Staff Meet Mayo Clin*, 24:181-197.
- Hickling P, Jacoby RK, Kirwan JR. 1998. Joint destruction after glucocorticoids are withdrawn in early rheumatoid arthritis. Arthritis and Rheumatism Council Low Dose Glucocorticoid Study Group. *Br J Rheumatol*, 37 (9):930-936.
- Hofbauer LC, Heufelder AE. 2001. Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med*, 79 (5-6):243-253.
- Hudson M, Rahme E, Richard H, Pilote L. 2007. Risk of congestive heart failure with nonsteroidal antiinflammatory drugs and selective Cyclooxygenase 2 inhibitors: a class effect? *Arthritis Rheum*, 57 (3):516-523.
- Iking-Konert C, Ostendorf B, Schneider M. 2007. [Management of early rheumatoid arthritis]. *Med Monatsschr Pharm*, 30 (3):94-100; quiz 101.
- Jensen T, Hansen M, Madsen JC, Kollerup G, Stoltenberg M, Florescu A, Schwarz P. 2001. Serum levels of parathyroid hormone and markers of bone metabolism in patients with rheumatoid arthritis. Relationship to disease activity and glucocorticoid treatment. *Scand J Clin Lab Invest*, 61 (6):491-501.

- Kalantzis A, Marshman Z, Falconer DT, Morgan PR, Odell EW. 2005. Oral effects of low-dose methotrexate treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 100 (1):52-62.
- Kameyama O, Nakahigashi Y, Nakao H, Uejima D, Tsuji H. 2000. Activity of rheumatoid arthritis and urinary pyridinoline and deoxypyridinoline. *J Orthop Sci*, 5 (4):385-389.
- Kaufmann J, Mueller A, Voigt A, Carl HD, Gursche A, Zacher J, Stein G, Hein G. 2003. Hydroxypyridinium collagen crosslinks in serum, urine, synovial fluid and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis compared with osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 42 (2):314-320.
- Kirwan JR. 1995. The effect of glucocorticoids on joint destruction in rheumatoid arthritis. The Arthritis and Rheumatism Council Low-Dose Glucocorticoid Study Group. *N Engl J Med*, 333 (3):142-146.
- Kojima F, Kato S, Kawai S. 2005. Prostaglandin E synthase in the pathophysiology of arthritis. *Fundam Clin Pharmacol*, 19 (3):255-261.
- Kollerup G, Hansen M, Horslev-Petersen K. 1994. Urinary hydroxypyridinium cross-links of collagen in rheumatoid arthritis. Relation to disease activity and effects of methylprednisolone. *Br J Rheumatol*, 33 (9):816-820.
- Kornak U, Mundlos S. 2003. Genetic disorders of the skeleton: a developmental approach. *Am J Hum Genet*, 73 (3):447-474.
- Kramer JM, Gaffen SL. 2007. Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. *J Periodontol*, 78 (6):1083-1093.
- Kroger H, Honkanen R, Saarikoski S, Alhava E. 1994. Decreased axial bone mineral density in perimenopausal women with rheumatoid arthritis--a population based study. *Ann Rheum Dis*, 53 (1):18-23.
- Laine L, Curtis SP, Cryer B, Kaur A, Cannon CP. 2007. Assessment of upper gastrointestinal safety of etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the Multinational Etoricoxib and Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a randomised comparison. *Lancet*, 369 (9560):465-473.
- Larsson E, Erlandsson Harris H, Larsson A, Mansson B, Saxne T, Klareskog L. 2004. Corticosteroid treatment of experimental arthritis retards cartilage destruction as determined by histology and serum COMP. *Rheumatology (Oxford)*, 43 (4):428-434.
- Lehmann HJ, Mouritzen U, Christgau S, Cloos PA, Christiansen C. 2002. Effect of bisphosphonates on cartilage turnover assessed with a newly developed assay for collagen type II degradation products. *Ann Rheum Dis*, 61 (6):530-533.
- Lerner UH, Jones IL, Gustafson GT. 1987. Bradykinin, a new potential mediator of inflammation-induced bone resorption. Studies of the effects on mouse calvarial bones and articular cartilage in vitro. *Arthritis Rheum*, 30 (5):530-540.
- Lewiecki EM, Miller PD, McClung MR, Cohen SB, Bolognese MA, Liu Y, Wang A, Siddhanti S, Fitzpatrick LA. 2007. Two-Year Treatment With Denosumab (AMG 162) in a Randomized Phase 2 Study of Postmenopausal Women With Low Bone Mineral Density. *J Bone Miner Res*,
- Lundy SK, Sarkar S, Tesmer LA, Fox DA. 2007. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. T lymphocytes. *Arthritis Res Ther*, 9 (1):202.
- Maddison PJ, Bacon PA. 1974. Vitamin D deficiency, spontaneous fractures, and osteopenia in rheumatoid arthritis. *Br Med J*, 4 (5942):433-435.
- Manicourt DH, Poilvache P, Van Egeren A, Devogelaer JP, Lenz ME, Thonar EJ. 2000. Synovial fluid levels of tumor necrosis factor alpha and oncostatin M correlate with

- levels of markers of the degradation of crosslinked collagen and cartilage aggrecan in rheumatoid arthritis but not in osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 43 (2):281-288.
- Manolagas SC, Jilka RL. 1995. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med*, 332 (5):305-311.
- Masaki M, Matsushita M, Wakitani K. 1998. Inhibitory effects of JTE-522, a novel prostaglandin H synthase-2 inhibitor, on adjuvant-induced arthritis and bone changes in rats. *Inflamm Res*, 47 (4):187-192.
- Mastbergen SC, Lafeber FP, Bijlsma JW. 2002. Selective COX-2 inhibition prevents proinflammatory cytokine-induced cartilage damage. *Rheumatology (Oxford)*, 41 (7):801-808.
- May KP, Mercill D, McDermott MT, West SG. 1996. The effect of methotrexate on mouse bone cells in culture. *Arthritis Rheum*, 39 (3):489-494.
- McLaren AM, Isdale AH, Whiting PH, Bird HA, Robins SP. 1993. Physiological variations in the urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen. *Br J Rheumatol*, 32 (4):307-312.
- Mello SB, Barros DM, Silva AS, Laurindo IM, Novaes GS. 2000. Methotrexate as a preferential cyclooxygenase 2 inhibitor in whole blood of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 39 (5):533-536.
- Molenaar ET, Lems WF, Dijkmans BA, de Koning MH, van de Stadt RJ, Voskuyl AE. 2000. Levels of markers of bone resorption are moderately increased in patients with inactive rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 39 (7):742-744.
- Molenaar ET, Voskuyl AE, Dinant HJ, Bezemer PD, Boers M, Dijkmans BA. 2004. Progression of radiologic damage in patients with rheumatoid arthritis in clinical remission. *Arthritis Rheum*, 50 (1):36-42.
- Morton DJ, Barrett-Connor EL, Schneider DL. 1998. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and bone mineral density in older women: the Rancho Bernardo study. *J Bone Miner Res*, 13 (12):1924-1931.
- Muller A, Jakob K, Hein GE. 2003. Evaluation of free and peptide bound collagen crosslink excretion in different skeletal diseases. *Ann Rheum Dis*, 62 (1):65-67.
- Muller A, Bolzner C, Eidner T, Smolenski UC, Hein G. 2007. Factors modifying collagen catabolism in patient with ankylosing spondylitis. *Eur J Med Res*, 12 (be released to the public):1-5.
- Muller A, Hein G, Franke S, Herrmann D, Henzgen S, Roth A, Stein G. 1996. Quantitative analysis of pyridinium crosslinks of collagen in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis using high-performance liquid chromatography. *Rheumatol Int*, 16 (1):23-28.
- Murakami N, Takase H, Saito T, Iwata K, Miura H, Naruse T. 1998. Effects of a novel non-steroidal anti-inflammatory drug (M-5011) on bone metabolism in rats with collagen-induced arthritis. *Eur J Pharmacol*, 352 (1):81-90.
- Murray TM. 1996. Prevention and management of osteoporosis: consensus statements from the Scientific Advisory Board of the Osteoporosis Society of Canada. 4. Calcium nutrition and osteoporosis. *Cmaj*, 155 (7):935-939.
- Noguchi M, Kimoto A, Kobayashi S, Yoshino T, Miyata K, Sasamata M. 2005. Effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, on the pathophysiology of adjuvant arthritis in rat. *Eur J Pharmacol*, 513 (3):229-235.
- Nouri AM, Panayi GS. 1987. Cytokines and the chronic inflammation of rheumatic disease. III. Deficient interleukin-2 production in rheumatoid arthritis is not due to suppressor mechanisms. *J Rheumatol*, 14 (5):902-906.
- Oelzner P, Muller A, Deschner F, Huller M, Abendroth K, Hein G, Stein G. 1998. Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis. *Calcif Tissue Int*, 62 (3):193-198.

- Pando JA, Duray P, Yarboro C, Gourley MF, Klippel JH, Schumacher HR. 2000. Synovitis occurs in some clinically normal and asymptomatic joints in patients with early arthritis. *J Rheumatol*, 27 (8):1848-1854.
- Pap T, Muller-Ladner U, Gay RE, Gay S. 2000. Fibroblast biology. Role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*, 2 (5):361-367.
- Park JY, Pillinger MH, Abramson SB. 2006. Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. *Clin Immunol*, 119 (3):229-240.
- Poulter LW, Janossy G. 1985. The involvement of dendritic cells in chronic inflammatory disease. *Scand J Immunol*, 21 (5):401-407.
- Rahme E, Nedjar H. 2007. Risks and benefits of COX-2 inhibitors vs non-selective NSAIDs: does their cardiovascular risk exceed their gastrointestinal benefit? A retrospective cohort study. *Rheumatology (Oxford)*, 46 (3):435-438.
- Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, Sundin U, van Venrooij WJ. 2003. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 48 (10):2741-2749.
- Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin S, Seibel MJ. 1994. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res*, 9 (10):1643-1649.
- Rodan GA, Fleisch HA. 1996. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest*, 97 (12):2692-2696.
- Rubinacci A, Melzi R, Zampino M, Soldarini A, Villa I. 1999. Total and free deoxypyridinoline after acute osteoclast activity inhibition. *Clin Chem*, 45 (9):1510-1516.
- Sangha O. 2000. Epidemiology of rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford)*, 39 Suppl 2:3-12.
- Sarkar S, Fox DA. 2007. Regulatory T cell defects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 56 (3):710-713.
- Scharla SH, Lempert UG, Kamilli I. 2000. [Inflammation mediated osteopenia (IMO): therapeutic effect of D-hormone and the role of cytokines]. *Z Rheumatol*, 59 Suppl 1:21-23.
- Schlemmer A, Hassager C, Jensen SB, Christiansen C. 1992. Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 74 (3):476-480.
- Schmidt-Gayk H, Roth HJ, Becker S, Reichel H, Boneth HG, Knuth UA. 1995. Noninvasive parameters of bone metabolism. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 4 (4):334-338.
- Seibel MJ, Duncan A, Robins SP. 1989. Urinary hydroxy-pyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic diseases. *J Rheumatol*, 16 (7):964-970.
- Seibel MJ, Woitge H, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, Duncan A, Nicol P, Ziegler R, Robins SP. 1994. Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: results of a pilot study. *J Bone Miner Res*, 9 (9):1433-1440.
- Simon LS, Weaver AL, Graham DY, Kivitz AJ, Lipsky PE, Hubbard RC, Isakson PC, Verburg KM, Yu SS, Zhao WW, Geis GS. 1999. Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. *Jama*, 282 (20):1921-1928.
- Singh G MA, Triadafilopoulos G. 2005. Both selective and non selective cox-2 inhibitors and non selective NSAIDs increase the risk of acute myocardial infarction in patients with arthritis: selectivity is with the patient, not the drug

- class. *Annals Rheum Dis*, 64 ((Suppl III): 85)
- Sinigaglia L, Varenna M, Binelli L, Bartucci F, Arrigoni M, Ferrara R, Abbiati G. 1995. Urinary and synovial pyridinium crosslink concentrations in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 54 (2):144-147.
- Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. 2007. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet*,
- Srivastava AK, Libanati C, Oberrauch W, Leenings J, Greenwald M, Baylink DJ. 2003. Analytical and clinical evaluation of the Bio-Rad HPLC kit for measurement of type I collagen cross links. *J Bone Miner Metab*, 21 (3):134-144.
- Stichtenoth DO, Thoren S, Bian H, Peters-Golden M, Jakobsson PJ, Crofford LJ. 2001. Microsomal prostaglandin E synthase is regulated by proinflammatory cytokines and glucocorticoids in primary rheumatoid synovial cells. *J Immunol*, 167 (1):469-474.
- Sugiyama E, Taki H, Kuroda A, Mino T, Yamashita N, Kobayashi M. 1996. Interleukin-4 inhibits prostaglandin E2 production by freshly prepared adherent rheumatoid synovial cells via inhibition of biosynthesis and gene expression of cyclo-oxygenase II but not of cyclo-oxygenase I. *Ann Rheum Dis*, 55 (6):375-382.
- Suzuki M, Takahashi M, Miyamoto S, Hoshino H, Kushida K, Miura M, Inoue T. 1998. The effects of menopausal status and disease activity on biochemical markers of bone metabolism in female patients with rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*, 37 (6):653-658.
- Symmons DP, Barrett EM, Bankhead CR, Scott DG, Silman AJ. 1994. The incidence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: results from the Norfolk Arthritis Register. *Br J Rheumatol*, 33 (8):735-739.
- Szulc P, Garnero P, Munoz F, Marchand F, Delmas PD. 2001. Cross-sectional evaluation of bone metabolism in men. *J Bone Miner Res*, 16 (9):1642-1650.
- Takahashi M, Suzuki M, Naitou K, Miyamoto S, Kushida K. 1999. Comparison of free and peptide-bound pyridinoline cross-links excretion in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 38 (2):133-138.
- Tobias JH, Laversuch CV, Wilson N, Robins SP. 1996. Neridronate preferentially suppresses the urinary excretion of peptide-bound deoxypyridinoline in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 59 (5):407-409.
- Toh ML, Miossec P. 2007. The role of T cells in rheumatoid arthritis: new subsets and new targets. *Curr Opin Rheumatol*, 19 (3):284-288.
- Topol EJ, Falk GW. 2004. A coxib a day won't keep the doctor away. *Lancet*, 364 (9435):639-640.
- Torikai E, Kageyama Y, Takahashi M, Nagano A. 2006. The effect of methotrexate on bone metabolism markers in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*, 16 (6):350-354.
- Turesson C, Jacobsson LT. 2004. Epidemiology of extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 33 (2):65-72.
- Uebelhart D, Delmas PD. 1993. [Assay of cross-linking molecules of collagen (pyridinolines) in the study of the degradation of bone tissue and articular cartilage]. *Pathol Biol (Paris)*, 41 (10):951-961.
- Uehara R, Suzuki Y, Ichikawa Y. 2001. Methotrexate (MTX) inhibits osteoblastic differentiation in vitro: possible mechanism of MTX osteopathy. *J Rheumatol*, 28 (2):251-256.
- van Everdingen AA, Jacobs JW, Siewertsz Van Reesema DR, Bijlsma JW. 2002. Low-dose prednisone therapy for patients with early active rheumatoid arthritis: clinical efficacy, disease-modifying properties, and side effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med*, 136 (1):1-12.

- van Staa TP, Geusens P, Pols HA, de Laet C, Leufkens HG, Cooper C. 2005. A simple score for estimating the long-term risk of fracture in patients using oral glucocorticoids. *Qjm*, 98 (3):191-198.
- Verhoeven AC, Boers M. 1997. Limited bone loss due to corticosteroids; a systematic review of prospective studies in rheumatoid arthritis and other diseases. *J Rheumatol*, 24 (8):1495-1503.
- Vesper HW, Audain C, Woolfitt A, Ospina M, Barr J, Robins SP, Myers GL. 2003. High-performance liquid chromatography method to analyze free and total urinary pyridinoline and deoxypyridinoline. *Anal Biochem*, 318 (2):204-211.
- Wassenberg S, Rau R, Steinfeld P, Zeidler H. 2005. Very low-dose prednisolone in early rheumatoid arthritis retards radiographic progression over two years: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*, 52 (11):3371-3380.
- Westhovens R, Dequeker J. 2000. Rheumatoid arthritis and osteoporosis. *Z Rheumatol*, 59 Suppl 1:33-38.
- Westman M, Korotkova M, af Klint E, Stark A, Audoly LP, Klareskog L, Ulfgren AK, Jakobsson PJ. 2004. Expression of microsomal prostaglandin E synthase 1 in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Rheum*, 50 (6):1774-1780.
- White WB, West CR, Borer JS, Gorelick PB, Lavange L, Pan SX, Weiner E, Verburg KM. 2007. Risk of cardiovascular events in patients receiving celecoxib: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Am J Cardiol*, 99 (1):91-98.
- Wilkinson JM, Jackson B, Eastell R. 2003. Effect of pamidronate on excretion of pyridinium crosslinks of collagen after total hip arthroplasty. *Calcif Tissue Int*, 73 (4):326-331.
- Zink A, Huscher D, Thiele K, Listing J, Schneider M. 2004. [National database of German arthritis centers. Tool for health services research]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 47 (6):526-532.

9. ANHANG

CURRICULUM VITAE

PERSÖNLICHE INFORMATION

Personalien	Lars Kummer, geb. am 25.04.1979 in Rudolstadt
Nationalität	deutsch
Familienstand	ledig

SCHULAUSBILDUNG

1985-1991	POS Wilhelm Pieck in Rudolstadt
1991-1997	Friedrich-Fröbel-Gymnasium in Bad Blankenburg

WEHRDIENST UND WARTEZEIT

1997-1999	Wartezeitüberbrückung und Grundwehrdienst im Sanitätsbereich
-----------	--

STUDIUM

1999-2006	Medizinstudent der Friedrich-Schiller-Universität in Jena
10/2001	ärztliche Vorprüfung
10/2002	1. Staatsexamen
10/2004	2. Staatsexamen
06/2006	3. Staatsexamen

WISSENSCHAFTLICHER WERDEGANG UND ÄRZTLICHE TÄTIGKEIT

Seit 01/2004	Doktorand in der Abteilung Rheumatologie/Osteologie der FSU Jena
Seit 07/2006	Assistenzarzt in der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin der FSU Jena

Zeigerheim, den 28.09.2007

Lars Kummer

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönliche Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl des Materials sowie bei der Erstellung des Manuskriptes unterstützt haben: Prof. Dr. med. G. Hein und Dr. rer. nat. A. Müller,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für meine Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Zeigerheim, den 28.09.2007

Lars Kummer

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Prof. Dr. med. G. Hein ermöglichte mir dieses interessante Projekt. Seiner fachlichen Betreuung, wertvollen Anregung und kritischen Korrektur bin ich außerordentlich dankbar. Besonders geschätzt habe ich die von ihm gewährte Freiheit, im Rahmen der Promotionsarbeit auch eigene Wege gehen zu dürfen. Ohne die dabei gesammelten Erfahrungen wären die komplexe Studienplanung, der Ablauf, die Datenauswertung und die Interpretation der Ergebnisse nicht vorstellbar gewesen.

Die direkte und indirekte Unterstützung durch die Kolleginnen und Kollegen der Abteilung für Rheumatologie und Osteologie sowie der medizinischen Statistik möchte ich gesondert hervorheben. Das fachmännische Wissen von Dr. rer. nat. A. Müller und seine intensive Einweisung in die Methodik waren Grundlage für eine erfolgreiche Laborarbeit.

Die vorliegende Promotionsarbeit wurde von mir in der Zeit von 2004 bis 2007 im Funktionsbereich Rheumatologie/Osteologie des Universitätsklinikums Jena angefertigt, was ohne die Begleitung hilfsbereiter Menschen undenkbar gewesen wäre.

Zeigerheim, den 28.09.2007

Lars Kummer